

ANTAGONISME OU POTENTIALISATION DE LA CURARISATION

par quelques molécules soufrées

THESE

pour l'obtention du diplôme de

Doctorat d'Etat en Pharmacie

Présentée et soutenue le 21 Décembre 1959

PAR

François BOURILLET

Pharmacien

Licencié ès-Sciences

Diplômé de l'Institut de Pharmacodynamie
et de Pharmacotechnie de la Faculté de Pharmacie de Paris

Assistant à la Faculté de Médecine de Paris

Ancien interne des Hôpitaux de Paris

Ancien Préparateur et ancien chargé de cours
à l'Ecole pratique des Hautes Etudes

JURY

{ MM. VALETTE, *Président.*
QUEVAUVILLER,
ROSSIGNOL,

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND & C^{ie}, ÉDITEURS

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1959

UNIVERSITÉ DE PARIS — FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1959-1960

Série E. - N° 90

ANTAGONISME OU POTENTIALISATION DE LA CURARISATION par quelques molécules soufrées

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de

Doctorat d'Etat en Pharmacie

Présentée et soutenue le 21 Décembre 1959

PAR

François BOURILLET

Pharmacien

Licencié ès-Sciences

Diplômé de l'Institut de Pharmacodynamie
et de Pharmacotechnie de la Faculté de Pharmacie de Paris

Assistant à la Faculté de Médecine de Paris

Ancien interne des Hôpitaux de Paris

Ancien Préparateur et ancien chargé de cours
à l'Ecole pratique des Hautes Etudes

JURY

MM. VALETTE, *Président.*
QUEVAUVILLER,
ROSSIGNOL,

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND & C^{ie}, ÉDITEURS

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1959



PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

M. René FABRE, *Doyen*, Membre de l'Institut, C. $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ C.
MM. JANOT, *Assesseur*, $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I., G. CUVIER, *Secrétaire Général*, $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.
M. L. JEANDEL, *Secrétaire*, $\mathfrak{U}$ I., A. QUILLIOT, *Secrétaire*.
Doyen Honoraire : M. RADAIS, C. $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ C.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. DELÉPINE, C. $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I., Membre de l'Institut; LAUNOY, O. $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.;
FLEURY, O. $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.; MASCRÉ, O. $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.; PICON, O. $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.,
BEDEL $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.

PROFESSEURS

MM. FABRE, Membre de l'Institut, C $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ C.	Toxicologie (T.).
JANOT, $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.	Pharmacie galénique (T.).
VALETTE, $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.	Pharmacodynamie (T.).
PARIS, $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale (T.).
GUILLLOT, $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.	Physique (T.).
GAUTIER, $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.	Chimie organique (T.).
Mlle LAMBIN, $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.	Microbiologie (T.).
MM. RAOUL, $\mathfrak{U}$ I.	Zoologie appliquée (T.).
COURTOIS, $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.	Chimie biologique (T.).
DOMANGE, $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.	Chimie minérale (T.).
CRETE, $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.	Botanique (T.).
TRUHAUT, O. $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.	Toxicologie et Hygiène industrielle (T.P.).
MORETTE, $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.	Hydrologie (T.).
CAVIER, $\mathfrak{U}$ I.	Parasitologie (T.P.).
QUEVAUVILLER, $\mathfrak{U}$ I.	Hygiène (T.).
MOREAU, $\mathfrak{F}$, $\mathfrak{U}$ I.	Pharmacie chimique.
GUY, $\mathfrak{U}$ A.	Mathématiques appliquées aux sciences physiques et biologiques (T.P.).
GERMAN, $\mathfrak{U}$ A.	Technique bactériologique (T.P.).
PIETTE, $\mathfrak{U}$ I.	Biologie sanguine (T.P.).
MALANGEAU, $\mathfrak{U}$ A.	Chimie analytique (T.).
N... ..	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie (T.).

MAITRES DE CONFÉRENCES

MM. DEYSSON,  A.	Cryptogamie.
FLAHAUT	Minéralogie.
RENAULT J.	Chimie organique.
DILLEMANN	Biologie végétale.
GIRARD,  A.	Chimie analytique.
LARUELLE	Physique.
LE MOAN	Toxicologie.
ROSSIGNOL	Pharmacodynamie.
LE HIR	Pharmacie galénique.
RENAULT H.,  A.	Pharmacie chimique.
DESVIGNES,  A.	Microbiologie.
PERCHERON	Biochimie.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM. BORY	Sérologie.
CORRIEZ,  I.	Physique.
GARDENT	Chimie analytique (1 ^{re} année).
GESTEAU,  I.	Physique biologique.
HARISPE,  I.	Chimie générale et pharmaceutique.
HENRY, ...	Chimie analytique (2 ^e et 3 ^e années).
LECLERC,  A.	Chimie biologique.
Mlle LONGUEVALLE,  I.	Service des examens de Chimie.
PELLERIN,  I.	Chimie analytique (2 ^e et 3 ^e années).
POTTIER,  A.	Pharmacie galénique industrielle.
Mlle ROLLEN,  A.	Biologie végétale.
SAVEL	Parasitologie.
N... ..	Microbiologie.
N... ..	Chimie (4 ^e année).

INSTITUT DE PHARMACOTECHNIE ET DE PHARMACODYNAMIE

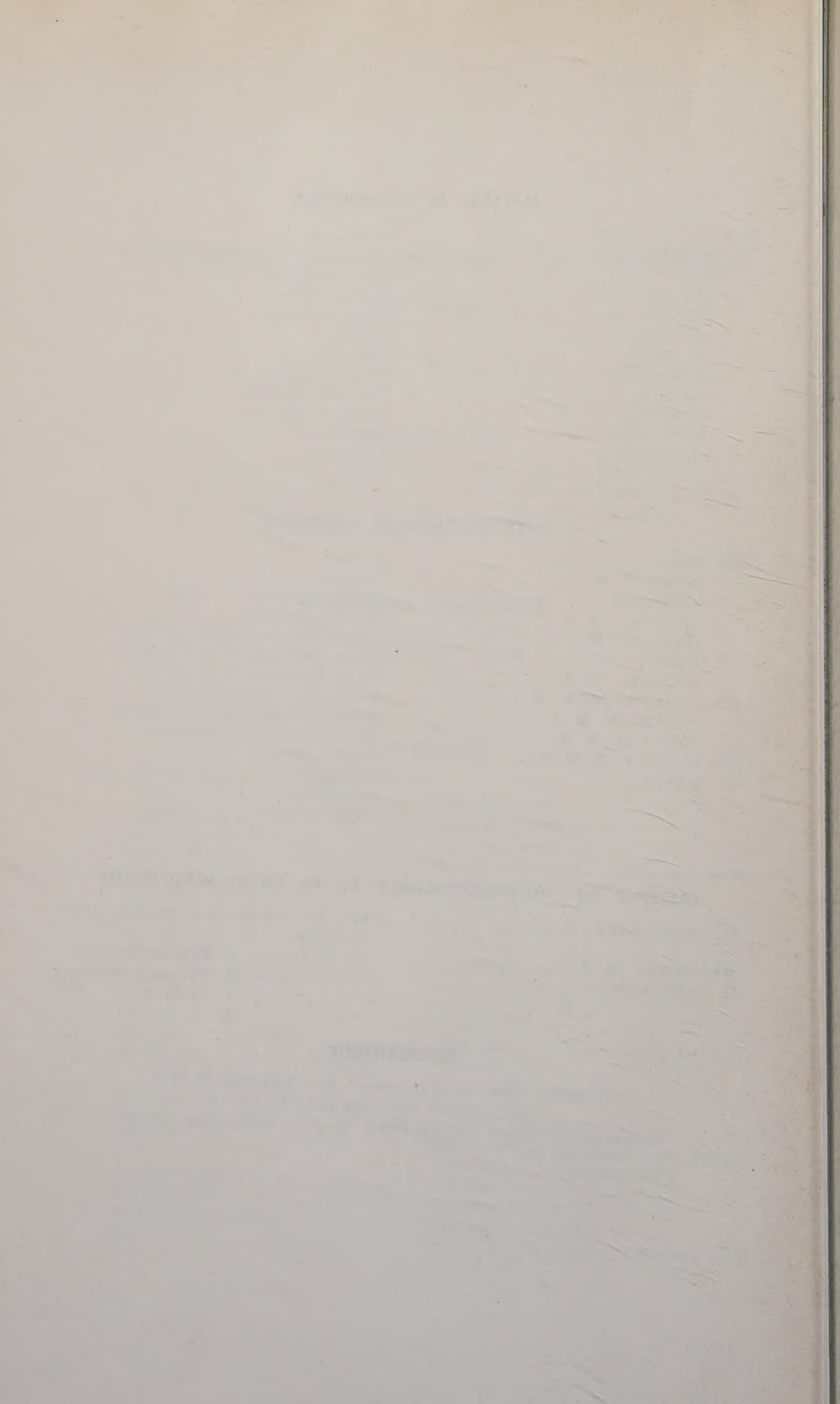
M. GOUTAREL,  A.	Chef de Travaux de Pharmacotechnie galénique.
Mlle MORIN,  A.	Chef de Travaux de Pharmacodynamie.
M. LUSINCHI	Chef de Travaux de Pharmacie chimique.

BIBLIOTHÈQUE

Conservateur, chargé de la Direction : M. GARNIER,  I.,  I.

Conservateur : Mlle LAVAUD,  I.

Bibliothécaires : Mmes DESGRIPPES,  A. et KREHMER,  A.



A LA MEMOIRE DE MON GRAND-PERE G. BOURILLET

Pharmacien

Ancien Interne des Hôpitaux de Paris

A MON PERE G. BOURILLET

Pharmacien

Ancien Interne des Hôpitaux de Paris

A MA MERE

A MA FEMME

A MES ENFANTS

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUS LES MIENS

En témoignage de ma profonde affection.

A TOUS MES AMIS

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. CHEYMOL

Professeur de Pharmacologie à la Faculté de Médecine de Paris
Pharmacien-chef de l'Hôtel-Dieu
Officier de la Légion d'honneur

*Qui a bien voulu nous confier le sujet de
cette thèse et a dirigé notre travail avec une
paternelle bienveillance, nous faisant constam-
ment profiter de sa précieuse expérience.*

*A la profonde et affectueuse gratitude que
nous sommes heureux de lui exprimer ici, qu'il
nous permette d'ajouter l'assurance de notre
fidèle et entier dévouement.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR G. VALETTE

Professeur de Pharmacologie à la Faculté de Pharmacie de Paris

Membre de l'Académie Nationale de Médecine

Pharmacien-chef de l'Hôpital Cochin

Chevalier de la Légion d'honneur

*Hommage de respectueuse reconnaissance
pour l'extrême sollicitude qu'il nous a toujours
témoignée et pour le grand honneur qu'il nous
a fait en acceptant la présidence de cette thèse.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR A. QUEVAUVILLER

Professeur d'Hygiène à la Faculté de Pharmacie de Paris

*Qui guida nos premiers pas en pharmacologie
et qui a si aimablement accepté de juger notre
travail.*

En témoignage de bien vive gratitude.

A MONSIEUR P. ROSSIGNOL

Maître de Conférences-Agrégé à la Faculté de Pharmacie de Paris

*Qui a bien voulu faire partie du jury de
notre thèse.*

*Qu'il trouve ici l'expression de nos remer-
ciements et de notre reconnaissance.*

A MON MAITRE D'INTERNAT

MONSIEUR LE DOYEN R. FABRE

Doyen de la Faculté de Pharmacie de Paris

Membre de l'Institut

Membre de l'Académie Nationale de Médecine

Pharmacien-chef du Groupe hospitalier Necker - Enfants malades

Commandeur de la Légion d'honneur

*En hommage et témoignage de respectueuse
reconnaissance pour les années si fructueuses
passées en pharmacie hospitalière sous sa
bienveillante autorité.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR R. HAZARD

Professeur honoraire à la Faculté de Médecine de Paris

Membre de l'Académie Nationale de Médecine

Commandeur de la Légion d'honneur

*Qui nous a si aimablement accueilli dans son
laboratoire ; qu'il trouve ici l'expression de
notre bien vive et respectueuse gratitude pour
l'intérêt qu'il n'a cessé de nous témoigner.*

A MONSIEUR R. BERNIER

Docteur en Pharmacie

Membre de l'Académie de Pharmacie

Chevalier de la Légion d'honneur

A MONSIEUR P. BRUNEAU

Membre associé de l'Académie de Pharmacie

Chevalier de la Légion d'honneur

*Qui nous ont tant aidé, guidé et encouragé
dans la réalisation de ce travail.*

*En témoignage de notre affectueuse gratitude
et de notre respectueux dévouement.*

A MONSIEUR L. LEPRESTRE

Docteur en Pharmacie

Membre de l'Académie de Pharmacie

Officier de la Légion d'honneur

Mon premier maître en Pharmacie.

*En témoignage de notre reconnaissance et de
notre affection.*

Notre travail a été grandement facilité par l'atmosphère de cordialité et l'esprit d'équipe que nous avons toujours trouvés au LABORATOIRE DE PHARMACOLOGIE DE LA FACULTE DE MEDECINE DE PARIS ; nous tenons à exprimer notre bien vive gratitude à tous ceux qui nous ont aidé et encouragé de leur sympathie ou de leur amitié.

ABRÉVIATIONS

AEIT	: amino-éthylisothio-urée (bromhydrate).
ATP	: acide adénosine triphosphorique.
C ₁₀	: iodure de décaméthonium ou de décaméthylène bis-(triméthyl-ammonium).
<i>d</i> -TC	: chlorure de <i>d</i> -tubocurarine (1).
EST 1 ou 98 E	: α -naphtalène 4-sulfonate de sodium, azo- β -naphtol 6,8-disulfonate de sodium.
EST 2	: β -naphtol 6,8-disulfonate de sodium.
EST 3	: α -naphtalène-azo- β -naphtol 3,6-disulfonate de sodium.
EST 4	: α -naphtalène-azo- β -naphtol 6,8-disulfonate de sodium.
NADS	: naphtylamino 6,8-disulfonate de sodium.
Néostigmine	: méthyl-sulfate de néostigmine.
ppm	: potentiel de plaque motrice.
PSP	: phénolsulfonephtaléine ou rouge de phénol.
336 H.C.	: Di-iodo-éthylate de bis-(piperidylethyle) pipérazine [147].
606 H.C.	: Di-iodure d'hexaméthylène bis-(carbaminoylcholine) [77].
*	: Noms déposés.

(1) *d*-Tubocurarine Bruneau *.

INTRODUCTION

Après les magnifiques travaux expérimentaux de Claude BERNARD et de VULPIAN sur le curare, l'application clinique de cette drogue, dans les états de contracture, fut proposée et employée. Mais l'inconstante activité des préparations utilisées à l'époque fit totalement échouer cette nouvelle thérapeutique et le curare tomba dans un oubli à peu près complet.

Un essor extraordinaire lui était réservé, presque un siècle plus tard, lorsque des préparations standardisées, puis des composés purs d'origine végétale ou de synthèse furent obtenus et depuis 1941 l'emploi de la curarisation a pris une place très importante en clinique. A la fois origine et conséquence de cet essor, la recherche expérimentale sur le curare et les curarisants se développe de façon remarquable. De tels médicaments constituent bien, comme l'avait dit Claude BERNARD, des « scapels profonds » permettant de pénétrer plus avant dans les secrets de la physiologie : c'est grâce à l'utilisation du curare que le mécanisme intime de la transmission neuromusculaire a pu être élucidé, mais dans ce domaine comme dans tout autre, une découverte ne fait que poser de nouveaux points d'interrogation et les inconnues restent encore fort nombreuses.

Aux propriétés curarisantes est liée une fonction chimique bien définie : la fonction ammonium quaternaire. La présence d'un tel groupement ne constitue une condition ni nécessaire, ni suffisante pour qu'une molécule exerce une activité curarisante, mais la très grande majorité des curarisants connus jusqu'ici, sont des dérivés ammoniums quaternaires. Malgré cette similitude chimique, on distingue à l'heure actuelle trois types de substances bloquant la transmission neuromusculaire :

— les curarimimétiques dont l'action est semblable à celle des curares naturels ;

— les acétylcholinomimétiques qui agissent comme le ferait un excès d'acétylcholine ;

— un groupe intermédiaire ou mixte qui participe des deux premiers types.

Nous reviendrons, un peu plus en détail, sur leurs caractéristiques respectives ⁽¹⁾, mais il faut remarquer que seul le premier type obéit de façon stricte à la définition de Claude BERNARD : « le nerf n'est pas touché, le muscle n'est pas touché, le poison agit à la jonction neuro-musculaire ». Les autres types exercent une atteinte plus ou moins profonde et prolongée de la fibre musculaire, et ne peuvent être considérés comme des « curarisants vrais ».

A la grande variété des substances actives, s'ajoute la complexité des réactions des différentes espèces animales et des différentes fibres musculaires : chez un même animal, une même substance est capable de provoquer des effets opposés — flaccidité ou contracture — suivant le muscle considéré.

On ne peut qu'admirer la lucidité et la magistrale simplicité des observations de Claude BERNARD ou de VULPIAN qui n'ont jamais été contredites par les expériences ultérieures et qui conservent de ce fait une étonnante actualité et une autorité scientifique incontestable.

C'est pour nous un très grand honneur d'apporter notre modeste contribution à un problème dont les promoteurs furent de si illustres savants.

Deux faits expérimentaux sont à l'origine de notre travail :

— les propriétés antagonistes qu'exercent le rouge Congo et certains colorants sulfonés vis-à-vis des effets du curare ;

— la présence d'un reste mercapto-éthylamine à fonction thiol libre et active dans la formule du co-Enzyme A ⁽²⁾.

Nous avons voulu rechercher parmi les nombreuses fonctions chimiques minérales ou organiques contenant du soufre, s'il en est qui soient capables de modifier dans un sens ou dans l'autre (antagonisme ou potentialisation) le cours d'une curarisation expérimentale.

Nos expériences ne porteront que sur les effets paralysants d'un curare naturel — le chlorure de *d*-Tubocurarine (*d*-TC) — alcaloïde retiré du *Chondrodendron tomentosum* (Menispermacées) ; la *d*-TC peut être considérée comme le type des curarisants vrais au sens de Claude BERNARD. D'autres molécules curarisantes ne seront utilisées qu'accessoirement pour confirmer une hypothèse ou un mécanisme d'action.

Les composés soufrés étudiés seront limités à des composés déjà connus, plus d'une centaine, que nous avons estimé représentatifs d'une fonction donnée. Ils appartiennent à la chimie minérale — hyposulfites — tétrathionates — sulfocyanure ou plus nombreux à la chimie organique ;

(1) Voir p. 42 et suiv.

(2) Cet enzyme intervient dans la biosynthèse de l'acétylcholine transmetteur physiologique de l'influx nerveux moteur (voir p. 118).

les fonctions soufrées organiques peuvent être divisées en deux grands groupes :

— les fonctions dont le soufre est divalent : acides aminés soufrés, dérivés soufrés hétérocycliques, thiohydantoïnes, thiobarbituriques, dérivés thiaminiques... ;

— les fonctions dont le soufre lié à l'oxygène, présente une valence supérieure : groupement sulfoné, par exemple, servant principalement à hydrophiliser une molécule organique active ou fonction sulfonamide d'activité beaucoup plus spécifique.

Aucun de ces composés — à quelques rares exceptions près ⁽¹⁾ — ne possède de propriétés curarisantes propres ; l'étude des effets d'une molécule curarisante sur une autre molécule curarisante constitue un problème différent que nous n'avons pas à traiter ici ; c'est pour cela que nous avons volontairement laissé de côté la fonction « sulfonium » rentrant dans plusieurs molécules à propriétés curarisantes. Celles-ci seront simplement signalées dans la première partie de notre travail à côté des autres substances curarisantes ; cette première partie sera une mise au point rapide et succincte du problème de la transmission neuromusculaire et de la curarisation permettant de situer notre travail expérimental et d'étayer certaines argumentations.

Dans une seconde partie, nous décrirons les techniques utilisées en détaillant l'une d'elle que nous avons largement employée au cours de nos expériences : la préparation neuromusculaire *in situ* nerf sciatique-muscle tibial antérieur du Lapin ou nerf sciatique-muscles tibial antérieur et soléaire du Chat.

Enfin la troisième partie — la plus importante — sera la partie expérimentale proprement dite :

Dans chacun des chapitres, nous avons, suivant les conseils de notre Maître, toujours séparé les résultats expérimentaux des interprétations que l'on sera tenté d'en faire :

les résultats — tirés d'expériences bien conduites — constituent des faits immuables, reproductibles et doués d'une valeur absolue ; les interprétations que l'on peut en tirer sont au contraire beaucoup plus hypothétiques, mouvantes, fonction des connaissances du moment, susceptibles d'évoluer. Elles ont une valeur relative et ne sont que des moyens d'orientation pour des travaux ultérieurs.

Nous serons donc, dans ce dernier cas, beaucoup plus réservé, car l'imagination est une arme indispensable mais à double tranchant : elle peut aussi bien conduire à la vérité qu'à de graves erreurs.

(1) Le bromure de dithiocholine, quelques dérivés thiaminiques.

Nous tenterons dans chaque groupe de composés d'établir les rapports entre la constitution et l'activité ; l'établissement de ces rapports constitue, en effet, le principal aspect de la recherche pharmacologique. Nous essaierons également d'entrevoir le mécanisme d'action de chacune des substances, mais ce problème ne sera pas notre souci majeur, le but premier de notre travail étant de relier l'activité à la présence dans une molécule de telle ou telle fonction soufrée.

Les conclusions auxquelles nous serons amené, ne concerneront que les espèces animales utilisées dans nos expériences. Seront-elles applicables à l'Homme ? C'est la question qui se pose et doit toujours se poser au Pharmacologue sans que celui-ci puisse y répondre. Cette limite apparente, loin de diminuer l'expérimentation animale, lui donne une ouverture, une valeur capables de satisfaire les aspirations les plus élevées de l'homme en participant de près ou de loin au soulagement du malade.

C'est dans ces responsabilités et cette grandeur que le Pharmacologue doit puiser sa conscience et son dynamisme.

PREMIERE PARTIE

GÉNÉRALITÉS

CHAPITRE I

LA TRANSMISSION NEUROMUSCULAIRE LIEUX D'ACTION DES SUBSTANCES QUI LA MODIFIENT

INTRODUCTION.

I. LA TRANSMISSION NEUROMUSCULAIRE.

1° Structure microscopique de la plaque motrice.

2° Mécanisme de la transmission :

- a)* le long du nerf,
- b)* du nerf à la plaque motrice,
- c)* au niveau de la plaque motrice,
- d)* de la plaque à la fibre musculaire,
- e)* au niveau des éléments contractiles.

II. LIEUX D'ACTION DES SUBSTANCES QUI MODIFIENT LA TRANSMISSION.

- 1° Transmission nerveuse.
- 2° Transmission nerf/plaque.
- 3° Au niveau de la plaque.
- 4° Transmission plaque/fibre musculaire.
- 5° Au niveau des fibres musculaires.

Ce problème si complexe auquel se sont attachés depuis quelques quinze années, plusieurs équipes de chercheurs, n'est pas encore complètement élucidé. Son analyse exige la mise en œuvre de techniques délicates, réalisables par quelques spécialistes. D'autre part, les structures et le fonctionnement de cette jonction varient suivant les espèces et même, chez un même animal suivant le muscle considéré ; on a été jusqu'à parler d'une spécificité de chaque fibre ; les recherches récentes sur les petites fibres nerveuses motrices ⁽¹⁾ montrent bien qu'à l'intérieur d'un même muscle, il peut exister plusieurs systèmes contractiles susceptibles de réagir différemment aux substances pharmacologiques.

Toutefois, la plupart des auteurs semblent d'accord sur le mécanisme intime de la transmission neuromusculaire ; nous allons rapidement résumer l'état actuel de nos connaissances sur ce problème en nous basant sur quelques revues générales parues depuis une dizaine d'années. Il ne nous appartient pas de discuter les arguments en faveur de tel ou tel mécanisme, ceux-ci relevant beaucoup plus de l'électrophysiologie et de la biochimie que de la physiologie classique ou de la pharmacologie. Nous ne donnerons donc que les références de ces revues, chacune comportant une bibliographie abondante.

I. — LA TRANSMISSION NEUROMUSCULAIRE

Elle comprend tout d'abord une *phase chimique* pendant laquelle l'influx nerveux moteur libère « l'intermédiaire chimique de la transmission » — l'*acétylcholine* — au niveau des terminaisons nerveuses. Des systèmes enzymatiques concentrés à ce niveau, président à la biosynthèse et à la destruction rapide de ce transmetteur physiologique.

L'acétylcholine libérée franchit la barrière synaptique entre les structures nerveuses et musculaires, atteint la plaque motrice et y déclenche une *phase électrique* aboutissant à la contraction de la fibre musculaire.

Nous rappellerons d'abord quelques données sur l'anatomie microscopique de la zone responsable de cette transmission, étant donné l'importance des structures dans un mécanisme aussi fin et complexe. Nous exposerons ensuite les processus généraux actuellement admis pour expliquer le fonctionnement intime de la transmission.

(1) Chez les batraciens, ces fibres nerveuses de petit diamètre (« *small nerve endings* » des auteurs anglosaxons) sont les seuls éléments nerveux moteurs. Chez les mammifères, elles n'interviennent que dans les réflexes proprioceptifs au niveau des fibres intrafusales (W. FELDBERG, [107] et S. W. KUFFLER [192-195-196]).

1° STRUCTURE DE LA JONCTION NEUROMUSCULAIRE

Les ramifications terminales d'une fibrille nerveuse motrice forment au niveau de leur insertion musculaire un petit renflement appelé « plaque motrice » ou « sole motrice ».

L'existence d'une telle structure, admise puis niée, a reçu une éclatante confirmation, principalement par les travaux de R. COUTEAUX [84-86]. Ces résultats ont été obtenus en utilisant la technique de coloration post-vitale au Vert Janus et la technique histochimique de KOELLE [179-180-181] perfectionnée par COUTEAUX, pour permettre la localisation d'une activité cholinestérasique « spécifique » ⁽¹⁾.

Dans une récente revue, R. COUTEAUX [85] tenant compte des observations faites au moyen du microscope électronique par plusieurs auteurs, principalement J. D. ROBERTSON [252], décrit un schéma de la plaque motrice extrêmement précis et quelque peu différent de celui admis jusqu'ici. Il faudra attendre l'analyse de coupes pratiquées sur de nombreuses espèces animales pour donner à la nouvelle structure proposée un caractère général.

Une fibre nerveuse motrice en arrivant au contact du muscle perd sa gaine de myéline et se ramifie en formant un petit peloton, plus ou moins étendu (de 50 à 100 μ), à la surface de la fibre musculaire. Ces ramifications sont, en réalité, logées dans des « sillons » ou « gouttières » synaptiques creusés dans le sarcoplasme. Ces gouttières sont bordées à l'extérieur, c'est-à-dire sur leur face musculaire, par des lamelles à la façon des ailettes d'un radiateur, parallèles entre elles et généralement perpendiculaires à l'axe de la gouttière. Les lamelles, donnant un aspect « palissadique » caractéristique, constituent l'appareil sous-neural dans lequel est concentrée l'activité cholinestérasique ⁽²⁾. Les structures palissadiques se colorent intensément au vert Janus et par la réaction histo-chimique de KOELLE (voir les fig. 1, 2 et 3).

(1) Les préparations sont mises en incubation, après ou sans fixation par le formol, avec un substrat contenant de l'acétyl-thiocholine. La thiocholine formée donne avec le glyccolate de cuivre contenu dans le liquide d'incubation un mercaptide blanc. Celui-ci traité par le sulfure d'ammonium donne du sulfure de cuivre noir, là où se situait une activité cholinestérasique. L'action préalable d'anticholinestérasiques (D.F.P. - éserine - néostigmine) empêche la coloration de se produire : preuve formelle de la spécificité de la méthode.

(2) La présence de cholinestérase au niveau des structures présynaptiques (terminaisons nerveuses) a été démontrée mais en beaucoup plus faible quantité qu'au niveau des structures post-synaptiques (lamelles), COUTEAUX et TAXI [87].

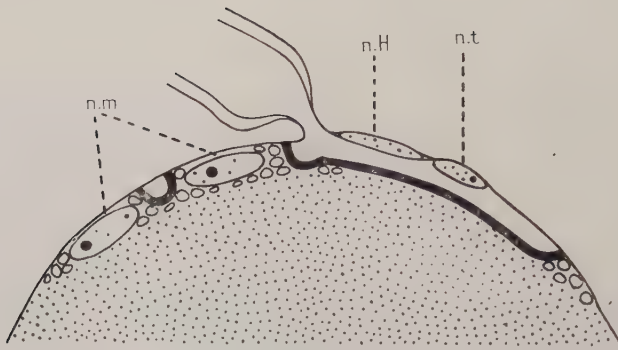


FIGURE 1.

Plaque motrice, d'après COUTEAUX [86].

L'appareil sous-neural est figuré en noir à la face profonde de deux rameaux nerveux terminaux coupés l'un, longitudinalement, l'autre transversalement.

nt : noyau téléglique accompagnant un rameau de l'arborescence nerveuse terminale.

nm : noyaux musculaires.

nH : noyau de l'endothélium de la gaine de Henlé qui accompagne la fibre nerveuse jusqu'à la plaque motrice et se termine à la surface de la plaque.

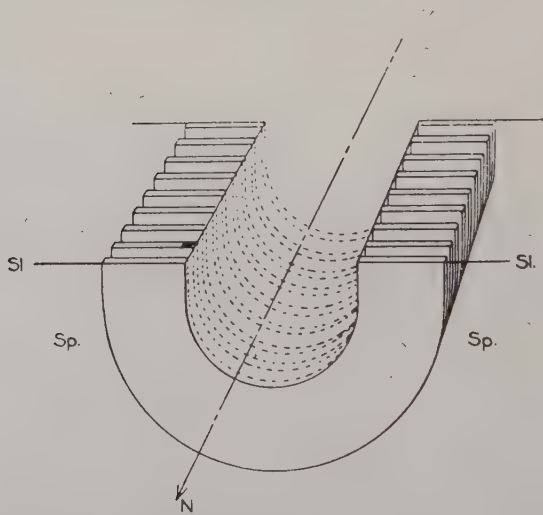


FIGURE 2.

Schéma montrant la disposition des lamelles de l'appareil sous-neural au niveau d'une portion de gouttière synaptique, d'après COUTEAUX [86].

SL : sarcolemme.

Sp : sarcoplasme.

N : axe du rameau nerveux terminal qui occupe normalement la gouttière.



FIGURE 3.

Microphotographie de l'appareil sous-neural de la Grenouille coloré histo-chimiquement.

D = $\times 1.750$
d'après COUTEAUX [86].

La présence de nombreuses inclusions, tant dans les structures nerveuses que musculaires de la synapse est la preuve d'une intense activité fonctionnelle :

— l'axoplasme terminal montre à côté de nombreuses mitochondries de très petites « vésicules » (30 à 50 $m\mu$) qui ne se retrouvent pas dans le reste de l'axone moteur ;

— le sarcoplasme au niveau de la plaque motrice présente un grand nombre de noyaux et de mitochondries, beaucoup moins abondants ailleurs (fig. 4).

Il était généralement admis que la gaine de SCHWANN se transformait au niveau de la jonction neuromusculaire en « téloglie », structure particulière qui séparait les éléments nerveux des éléments musculaires. Il apparaît maintenant que cette téloglie n'entoure pas mais recouvre

simplement la fibrille nerveuse ; elle servirait de « couvercle » à la gouttière synaptique (voir fig. 4).

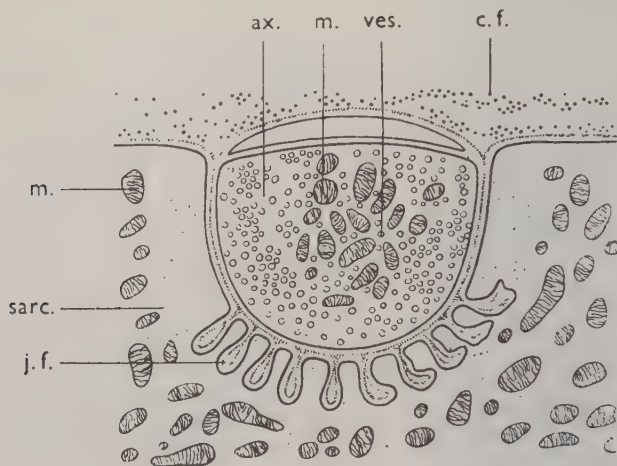


FIGURE 4.

Schéma d'une « gouttière synaptique » en coupe transversale.

ax : axoplasme ; c.f. : fibrilles de collagène ; j.f. : pli jonctionnel ; m : mitochondries ; sarc. : sarcoplasme ; vés. : vésicule.

(extrait de R. COUTEAUX [85] d'après ROBERTSON).

Comment est alors assuré le contact entre l'axoplasme et le sarcoplasme ? C'est-à-dire quelle est la structure intime de la synapse neuromusculaire ?

La membrane superficielle du sarcoplasme comprend sur toute sa surface trois feuilletts ; celle de l'axoplasme en comprendrait également trois. La membrane synaptique résultant de l'accolement au niveau de la jonction de ces deux membranes serait formée de cinq feuilletts, les feuilletts externes de l'axoplasme et du sarcoplasme se fondant en un seul. Les lamelles de la gouttière synaptique décrites plus haut sont en réalité des replis de la seule membrane sarcoplasmique, ils sont uniquement formés de ses trois feuilletts constitutifs (voir fig. 5 et 6). Ce sarcoplasme sous-neural constituant la plaque motrice présente par rapport au reste de la fibre musculaire deux caractères différentiels :

- l'absence du réseau fibrillaire argyrophile,
- une grande activité cholinestérasique.

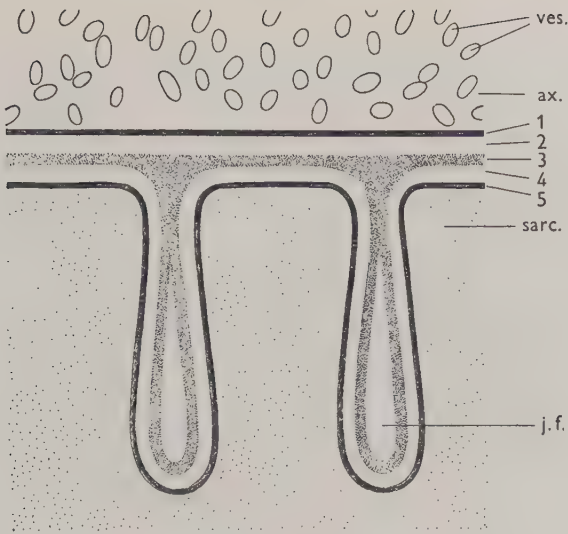


FIGURE 5.

Schéma de deux plis jonctionnels montrant comment la membrane sarcoplasmique superficielle se relie à la membrane de l'axoplasme et forme la membrane synaptique composée.

ax. : axoplasme ; j.f. : pli jonctionnel ; sarc. : sarcoplasme ; vés. ; vésicule.
1, 2, 3, 4, 5 : feuillets de la membrane synaptique composée.
(extrait de R. COUTEAUX [85] d'après ROBERTSON).

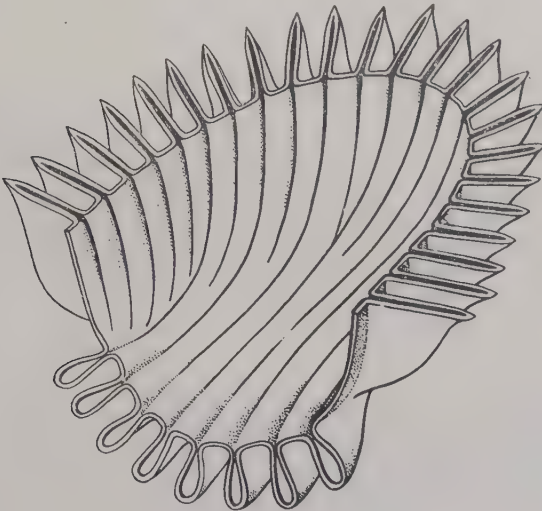


FIGURE 6.

Représentation schématique tridimensionnelle de l'appareil sous-neural à l'extrémité d'une gouttière synaptique.

(extrait de R. COUTEAUX [85]).

Il y a donc simple mais étroite juxtaposition de deux éléments cellulaires hautement actifs d'origine et de structure différentes, la plaque étant uniquement formée à partir des cellules musculaires.

La disposition de ces plis varie suivant les espèces animales. Chez les reptiles et les mammifères, ils sont perpendiculaires à l'axe de la gouttière aux extrémités et sur les bords, ils sont longitudinaux dans la partie profonde. La fig. 6 montre le schéma d'une gouttière proposé par R. COUTEAUX. Chez la Grenouille et le Crapaud, les gouttières sont moins profondes, la structure palissadique entourant les « fibres de petit diamètre » est moins régulière. Elles constituent le « buisson terminal » décrit par KÜHNE comme spécifique des batraciens anoures.

La répartition des plaques motrices le long d'un muscle n'est pas régulière ; de plus certains peuvent en être très riches, alors que d'autres en sont presque totalement dépourvus : *sartorius* de Grenouille, *gracilis* de Chat.

2° MECANISME DE LA TRANSMISSION.

Nous avons consulté sur ce sujet les articles généraux ⁽¹⁾ de COPPEE [82], BREMER [31], GRUNDFEST [138], ECCLES [98], ACHESON [1], KUFFLER [193-194], HUNT et KUFFLER [157], FESSARD et POSTERNAK [115], DALLEMAGNE [88], VAN DE WALLE [291], FELDBERG [107], HUXLEY [161].

Cette analyse a été volontairement simplifiée, car elle reste sur certains points dans le domaine de l'hypothèse ; les arguments avancés n'étant pas toujours absolument probants mais seulement probables.

Dans un but didactique, le mécanisme de la transmission, c'est-à-dire l'ensemble des phénomènes qui ont lieu entre l'excitation d'un nerf et la réponse contractile du muscle correspondant, peut être divisé arbitrairement en 5 parties :

ce qui se passe au niveau :

- du nerf,
- de la jonction nerf/plaque,
- de la plaque motrice,
- de la jonction plaque/fibre musculaire,
- de la fibre musculaire.

(1) La plupart de ces articles traitent également du problème de la curarisation qui lui est intimement lié.

a) TRANSMISSION LE LONG DU NERF.

Ce problème n'entre pas directement dans notre sujet, mais pour envisager le problème dans son ensemble, nous rappelons simplement comment se transmet l'influx nerveux provenant soit d'une stimulation physiologique d'origine centrale, soit d'une stimulation électrique.

Les phénomènes enregistrables de l'influx nerveux sont électriques : en effet au repos une fibre nerveuse est polarisée avec un certain potentiel dit « de repos », de « démarcation » ou de « lésion », il est de l'ordre de 30 à 40 millivolts. Une stimulation de la fibre nerveuse détermine une inversion de polarité appelée « variation négative » ou « potentiel d'action ». Cette inversion locale se propage de proche en proche le long du nerf à une vitesse de 25 m à 65 m/sec. suivant la grosseur de la fibre. Cette propagation n'est pas une simple conduction électrique mais un circuit local ou une onde capable de progresser en se comportant à son tour comme excitant pour les zones qu'il envahit successivement. Ce circuit local est concomitant d'une dissymétrie ionique de part et d'autre de la membrane de la fibre impliquant des perturbations chimiques extrêmement rapides et fugaces, constituant l'influx nerveux.

La conductibilité nerveuse peut être influencée par la température, les anesthésiques et supprimée par ligature.

L'influx arrive aux terminaisons nerveuses de la plaque motrice.

b) TRANSMISSION DU NERF A LA PLAQUE MOTRICE.

Entre les terminaisons nerveuses et la plaque, il y a, dans les structures histologiques, solution de continuité, c'est-à-dire simple contact de deux structures ; c'est à ce stade que s'effectue la véritable transmission synaptique neuromusculaire.

Il semble maintenant universellement admis que le « *transmetteur* », nom volontairement général et imprécis, soit de nature chimique. Il a été identifié à l'acétylcholine.

Plusieurs théories se sont affrontées sur ce problème : chimique, électrique, dualiste, mais de solides arguments expérimentaux plaident à l'heure actuelle en faveur de la théorie chimique avec l'intervention de l'acétylcholine ⁽¹⁾.

(1) Par stimulation du nerf moteur, il y a libération d'acétylcholine.

— Les injections d'acétylcholine peuvent reproduire tous les détails de la stimulation nerveuse motrice.

— L'influx nerveux sans acétylcholine semble incapable de provoquer la contraction ou plus précisément les courants d'action des terminaisons nerveuses ne sont pas actifs pour dépolariser la région de la plaque.

— Il existe au niveau de la plaque et des terminaisons une forte concentration des enzymes susceptibles de synthétiser ou de détruire l'acétylcholine.

— L'étude chronologique du phénomène est en faveur d'une transmission chimique : en effet, le délai synaptique ou latence entre l'arrivée de l'influx et l'action sur l'effecteur de la plaque est trop long pour une transmission électrique.

— Le « *transmetteur* » reste présent au niveau de l'effecteur plusieurs millisecondes, cette persistance ne pourrait être expliquée par une nature électrique.

Que se passe-t-il au niveau d'une synapse au moment de la transmission ?

L'acétylcholine est déjà présente dans les éléments nerveux sous la forme d'un complexe inactif avec des protéines ou des lipoprotéines. L'acétylcholine est « activée » ou « libérée » de ce complexe sous l'action d'un influx. L'acétylcholine se combine à un récepteur spécifique ⁽¹⁾ localisé à la surface de la membrane de la plaque, la distance entre la terminaison nerveuse et la membrane de plaque est de l'ordre de quelques dixièmes de μ . L'action dépolarisante de l'acétylcholine peut alors s'exercer vis-à-vis de la plaque, cette action est très fugace, car l'acétylcholine est très rapidement détruite par les cholinestérases présentes en grande quantité à ce niveau ⁽²⁾. La plaque recouvrant son état d'origine, est ainsi susceptible de subir l'action dépolarisante de nouvelles molécules d'acétylcholine.

L'influx nerveux arrivant au niveau des terminaisons nerveuses « libère » ou « active » l'acétylcholine qui se fixe sur un récepteur spécifique de la membrane de plaque.

c) TRANSMISSION AU NIVEAU DE LA PLAQUE MOTRICE.

La plaque est une portion de la substance musculaire différenciée au point de vue anatomique, fonctionnel et pharmacologique, mais sa spécificité est d'ordre chimique ; LANGLEY en 1905 [199] y proposait l'existence d'un matériel spécialisé, la « substance réceptrice » ⁽³⁾.

D'après des expériences plus récentes, la spécialisation de la membrane de plaque consiste dans le fait qu'elle réagit avec un groupe de substances de nature généralement cationique (acétylcholine, nicotine, tétraéthyl-ammonium) qui n'affecte ni le reste de la membrane musculaire, ni la membrane du nerf : la membrane musculaire, par exemple, est 1.000 fois moins sensible à l'acétylcholine que la plaque motrice elle-même.

Cette réactivité particulière de la plaque aux cations peut être expliquée par l'existence d'une substance chimique différenciée, absente ailleurs dans le nerf et dans le muscle : « la substance réceptrice » ; sa nature exacte est encore très mal connue et fait l'objet à l'heure

(1) Voir p. 29.

(2) Voir p. 21 les localisations histochimiques de COUTEAUX.

(3) VULPIAN — vrai précurseur en la matière — parle en 1883 d'une « substance unissante mettant en relation les extrémités périphériques des filets nerveux avec les cellules propres des glandes ou des muscles » (cité par le Professeur J. CHEYMOL lors de sa leçon inaugurale [60]).

actuelle de recherches fort intéressantes (1). On admet sa localisation au niveau des structures palissadiques de la plaque.

Par contre, on n'observe aucune excitabilité électrique particulière de la région de la plaque.

La plaque est, comme tout tissu vivant, normalement polarisée. La « libération » ou « l'activation » de l'acétylcholine au niveau des récepteurs de la membrane provoque une dépolarisation de la plaque donnant ainsi naissance au « potentiel de plaque motrice » (ppm), « onde de sole », « onde lente stimulus » ou « *end plate potential* » (epp) des auteurs anglo-saxons.

Ce ppm n'est pas hypothétique mais une réalité, enregistrée de façon précise, grâce aux expériences sur un montage de fibre unique isolée innervée de KUFFLER [184-185-186-187] (fig. 7).

Une fibre musculaire de couturier de Grenouille est isolée avec son innervation motrice constituée par une fibrille nerveuse. La préparation est disposée à l'interface d'une solution physiologique et d'une couche d'huile de paraffine. Le nerf et les électrodes de stimulation se trouvent dans la couche huileuse. L'électrode en platine servant à enregistrer les potentiels, partiellement encastrée dans un petit crochet de verre, est disposée à volonté le long de la fibre musculaire. Cette préparation est susceptible de réagir à l'application locale d'acétylcholine au moyen d'une micro-pipette.

Sur la préparation normale, on enregistre, après stimulation du nerf ou application de faibles quantités d'acétylcholine (microgoutte d'une dilution à 10^{-6}), un potentiel électrique complexe comprenant, si on se trouve au niveau de la plaque, le ppm et le potentiel d'action musculaire qu'il engendre ; si on se trouve hors de la région de plaque, le potentiel d'action est seul enregistré.

Par des artifices supprimant le potentiel d'action musculaire (curarisation, fatigue, stimulation antidromique de la fibre musculaire...), on

(1) Plusieurs hypothèses ou études ont été publiées sur la nature des récepteurs spécifiques de la plaque motrice.

— Pour PATON et ZAIMIS [231], ce serait un reste acide d'une chaîne polypeptidique ;

— Pour CAVALLO et coll. [51], la fixation aurait lieu sur une métallo-porphyrine liée à une protéine spécifique.

— G. WASER (1959), [292] analysant l'activité des molécules curarisantes de structures diverses, décrit un modèle théorique de récepteur cholinergique de la plaque motrice : ce serait un « pore » circulaire de 12 à 14 Å de diamètre dont les bords seraient anioniques, donc capables de fixer les groupements ammoniums quaternaires et dont le fond attirerait la fonction ester de l'acétylcholine. Il en résulterait un changement de configuration du « pore » qui deviendrait plus perméable aux ions Na et K.

— C. CHAGAS (1959) [53] admet que le composant cellulaire, de nature macromoléculaire constituant les récepteurs spécifiques des synapses de l'organe électrique d'*Electrophorus electricus* et des plaques motrices du diaphragme de Rat, serait un complexe contenant un poly-saccharide. Lors d'une intervention non publiée, l'auteur pensait à une macromolécule se rapprochant de l'héparine.

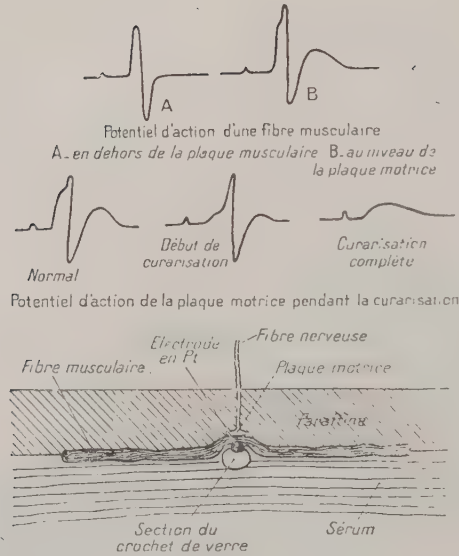


FIGURE 7.

Expériences de KUFFLER (1942-1943)

in P. GLEY [130].

peut enregistrer au niveau de la plaque et à ce niveau seulement, le ppm à l'état pur.

Quelles sont ses caractéristiques principales ? Il est :

- négatif,
- non propagé,
- rapidement décroissant,
- localisé à la plaque,
- constitué de 2 phases :
 - une phase ascendante rapide de 1 à 3 millisecondes,
 - une phase descendante lente plus ou moins complexe de 10 à 100 millisecondes.

Ce potentiel est susceptible de variations d'amplitude dont l'importance est capitale pour le passage ou le blocage de la transmission.

— Une diminution d'amplitude d'environ 50 p. cent n'amène aucune perturbation dans la transmission de l'influx moteur, la fibre musculaire répond tout à fait normalement : il existe ainsi, une grande marge de sécurité.

— Une diminution plus importante amène le potentiel à un « niveau critique » (diminution totale d'environ $2/3$), un seuil, au-dessous duquel le potentiel de plaque devient inefficace. Ce potentiel critique n'est pas une constante.

Notons qu'un ppm dont l'amplitude a été diminuée est susceptible de s'élever par sommation des stimuli nerveux.

Pendant le décours de ce ppm, la plaque est réfractaire à toute nouvelle dépolarisation par l'acétylcholine, les cholinestérases détruisent les molécules d'acétylcholine qui ont agi. La plaque revient à son état de repos : elle peut réagir à une nouvelle libération d'acétylcholine.

La fixation de l'acétylcholine sur les récepteurs spécifiques de la plaque motrice y provoque une dépolarisation : le « ppm » ou potentiel de plaque motrice.

d) TRANSMISSION PLAQUE MOTRICE - FIBRE MUSCULAIRE.

Ce potentiel de plaque, à condition qu'il soit au-dessus du niveau critique, va engendrer « le potentiel d'action musculaire propagé ».

Nous avons vu, dans les expériences de KUFFLER sur fibre unique isolée, que le potentiel d'action musculaire venait perturber l'enregistrement du potentiel de plaque motrice et prenait naissance avec un délai pratiquement nul ; en effet, il n'y a pas de transmission en milieux hétérogènes, la plaque étant — rappelons-le — une simple différenciation du tissu musculaire.

Comment expliquer la naissance de ce potentiel d'action musculaire sous l'influence du ppm ? ; ce phénomène est simple, c'est une extension électronique du ppm aux régions adjacentes qui rentre dans le cadre général du mécanisme de la dépolarisation des membranes semi-perméables et de l'initiation d'un influx propagé sous l'effet d'une polarisation négative (catelectrotonus).

En effet, cet influx se propage depuis la plaque où il prend naissance jusqu'aux extrémités de la fibre musculaire. Il a la forme d'un « spike » : c'est-à-dire de phases ascendante et descendante très rapides et sensiblement égales dans le temps.

L'ascension et la chute du potentiel s'effectuent en 1 m-sec. en moyenne et varient dans le temps suivant les espèces animales.

Son amplitude est bien plus grande que celle du potentiel de plaque motrice (environ 10 fois) et comporte un post-potentiel positif avant le retour au potentiel initial de repos.

Il peut d'ailleurs, pour un ppm au-dessus du niveau critique mais

encore trop faible, se former des potentiels d'action musculaire avortés dont la propagation s'arrête rapidement.

Le potentiel de plaque motrice engendre, par simple extension électrique au niveau des membranes de plaque et de fibre musculaire, un potentiel d'action musculaire propagé.

e) TRANSMISSION AU NIVEAU DES ÉLÉMENTS CONTRACTILES DE LA FIBRE MUSCULAIRE.

La fibre musculaire constitue la plus petite unité qui puisse accomplir une contraction physiologique normale. Chaque fibre est entourée d'une fine membrane électriquement polarisée. Au repos, il existe une différence de potentiel (d'environ 0,1 v) entre ses 2 faces, la face interne étant négative.

Le potentiel d'action musculaire propagé parcourt la membrane musculaire en la dépolarisant de façon locale et transitoire. Presque immédiatement le muscle se contracte. Ce temps de latence est trop court pour pouvoir expliquer le phénomène par une simple diffusion d'ions vers le centre de la fibre.

Il est admis que le signal de la contraction pourrait se transmettre, à l'intérieur de la fibre, à la vitesse requise, sous forme d'une onde de dépolarisation se propageant sur une membrane transversale interne. Un système de membranes transversales de ce type situées à de courts intervalles le long de la fibre, libérant chacune un « activateur » à l'intérieur de cette fibre au moment de la dépolarisation, pourrait expliquer la rapidité de la transmission.

La contraction et la décontraction de la fibre résultent de l'interaction de deux protéines, l'actine et la myosine, sous l'influence de l'acide adénosine triphosphorique (ATP).

Au repos, les faisceaux de filaments d'actine et de myosine ne sont pas liés l'un à l'autre par suite de la présence de l'ATP d'une part et de l'absence de son hydrolyse d'autre part. Par stimulation du muscle, la libération d'un activateur provoque le début de la décomposition enzymatique de l'ATP, ce qui entraîne une réaction entre la myosine, l'actine et l'ATP, le faisceau de filaments d'actine pénètre plus avant dans le faisceau de filaments de myosine, entraînant ainsi le raccourcissement de la fibre. Quand cesse la décomposition de l'ATP, son interaction avec la myosine et l'actine, ne peut continuer la contraction et brise la liaison entre les deux types de filament, la fibre peut alors s'étirer à nouveau. (D'après HUXLEY [161]).

II. — LIEUX D'ACTION DES SUBSTANCES MODIFIANT LA TRANSMISSION NEUROMUSCULAIRE

Chacun des différents chaînons de la transmission neuromusculaire que nous venons d'analyser rapidement, peut constituer le lieu d'action de substances médicamenteuses. Celles-ci pourront modifier cette transmission soit en la diminuant, ou l'inhibant, soit en la restaurant.

Nous tenterons d'expliquer pour chaque point leur mécanisme d'action et citerons les substances qui sont supposées agir en ce point.

1° TRANSMISSION NERVEUSE :

Ce point de la jonction nerf-muscle ne rentre pas directement dans le domaine de notre travail. Nous en parlerons toutefois, car certaines molécules dont les propriétés curariformes ou pseudo-curarisantes sont utilisées en thérapeutique, agissent à ce niveau.

En effet, le crésoxypropane-diol (1) et les molécules dérivées, exerceraient leur action paralysante au niveau de la moelle et plus particulièrement en inhibant le neurone intercalaire moteur bulbo-médullaire [21-22-23].

Elles se rapprochent donc plus des barbituriques que des curarisants vrais.

D'autre part, toute substance susceptible d'agir sur l'excitabilité nerveuse motrice, pourra influencer la transmission nerf-muscle, mais nous n'avons pas, dans ce cas, de modificateurs spécifiques de la transmission myoneurale.

2° TRANSMISSION NERF-PLAQUE.

La plupart des chercheurs admettent, nous l'avons vu, la nature chimique de cette transmission, la substance active étant l'acétylcholine.

Agiront donc à ce niveau, toutes les substances pouvant soit diminuer la quantité de transmetteur libéré par chaque terminaison nerveuse ou le nombre de terminaisons nerveuses actives, soit protéger de l'hydrolyse les molécules d'acétylcholine libérées.

(1) Myanésine *, Relaxar *, Décontractyl *.

Deux grands groupes de substances agissent à ce niveau :

a) SUBSTANCES AGISSANT SUR LA QUANTITÉ GLOBALE D'ACÉTYLCHOLINE LIBÉRÉE.

a) *La toxine botulique :*

BURGEN et coll. [46], dans un travail fort complet, ont bien précisé le mode d'action de la toxine botulique au niveau de la jonction neuromusculaire (étude sur la préparation nerf phrénique-diaphragme de Rat). L'action paralysante de la toxine botulique est irréversible et s'exerce avec une certaine latence.

Après ébullition de la toxine, ou addition préalable de sérum anti-botulique, il ne se produit pas de paralysie. De même les Rats immunisés sont fortement résistants à la paralysie botulique.

Cette paralysie est un blocage de la transmission neuromusculaire, car la conduction nerveuse n'est pas affectée et le muscle répond normalement à la stimulation directe.

Mais la paralysie n'est pas touchée par les anticholinestérasiques et le potassium.

Ce blocage diffère d'une curarisation : les plaques motrices restent normalement sensibles à l'acétylcholine, c'est le débit d'acétylcholine par stimulation nerveuse qui est fortement réduit.

Il faut admettre que la toxine se fixe de façon irréversible sur les terminaisons nerveuses motrices à l'endroit où elles perdent leur gaine de myéline et empêche toute libération d'acétylcholine : c'est ainsi que se produirait le blocage.

β) *Les ions :*

Les plus actifs à ce stade de la transmission sont les ions Mg^{++} , Ca^{++} et peut-être K^+ . Nous aurons l'occasion ultérieurement de revoir avec plus de détails l'action de ces ions au niveau de la jonction neuromusculaire.

L'ion Mg^{++} doit principalement ses propriétés paralysantes à l'action inhibitrice qu'il exerce sur la libération d'acétylcholine par les terminaisons nerveuses motrices. Une déficience en Ca^{++} agit de la même manière.

Un excès d'ion Ca^{++} , au contraire, exerce un effet favorable sur la quantité de transmetteur libéré.

Quant à l'ion K^+ , il mobiliserait l'acétylcholine sur ses effecteurs. Son rôle dans le cycle de synthèse et destruction de l'acétylcholine est d'ailleurs reconnu par la plupart des auteurs, sans toutefois être bien précisé.

γ) La *procaïne* (HARVEY [144]).

δ) Les « *Hemicholiniums* » : constituent un groupe de composés provoquant la mort par arrêt respiratoire ; le dérivé le plus marquant est le bromure de α, α' -diméthyléthanolamino-4-4'-diacétophénone. L'hypothèse d'une action centrale, tout d'abord avancée, n'a pas été confirmée. La paralysie respiratoire serait due à un bloc neuromusculaire progressif par diminution de la quantité d'acétylcholine libérée au niveau des terminaisons nerveuses (REITZEL et LONG [249]).

b) LES ANTICHOLINESTÉRASIQUES.

La localisation exacte de leur action est délicate : en effet, ils agissent là où se trouve la cholinestérase ; or celle-ci, d'après les plus récents travaux de COUTEAUX, se situerait à la fois au niveau de la plaque et au niveau des fibrilles nerveuses motrices (1).

D'un point de vue physiologique et pharmacologique, l'action de ces anticholinestérasiques s'effectuant avant que l'acétylcholine ait produit ses effets dépolarisants sur la plaque, nous avons préféré la classer dans ce paragraphe.

Nous reverrons plus en détail leur mécanisme d'action dans l'étude des antagonistes de la curarisation.

3° SUBSTANCES AGISSANT AU NIVEAU DE LA PLAQUE.

La plaque motrice constitue dans la chaîne de transmission neuromusculaire le point d'hypersensibilité chimique, soit physiologique, soit pharmacologique : c'est donc à son niveau qu'agissent les substances à action spécifique et ce, à des doses très faibles. Cette spécificité chimique de la plaque motrice est due, nous l'avons vu, à la présence d'une « substance réceptrice » particulière et c'est sur cette substance que les différents médicaments vont agir, de façon pure et modérée, étant donné les marges de sécurité dont la nature a pourvu la plaque motrice.

Outre l'acétylcholine, dépolarisant physiologique, ce sont des molécules curarisantes qui vont exercer leurs effets suivant deux mécanismes différents :

a) Curarisation par compétition,

b) Curarisation par dépolarisation prolongée.

Nous reverrons ces points plus en détail dans le chapitre suivant. Nous pouvons dire tout de suite que :

(1) Voir p. 21.

a) les curarisants par compétition, dits « curarimimétiques » ou « pachycurares », n'ont pas d'effets dépolarisants mais sont susceptibles, grâce à leur configuration stérique et leurs fonctions chimiques, de se fixer électivement sur la substance réceptrice aux lieux et places de l'excitant normal, l'acétylcholine, empêchant ainsi ce transmetteur d'agir ; il y a donc compétition entre le curarisant et l'acétylcholine pour l'occupation des récepteurs ;

b) les paralysants par dépolarisation prolongée, dits « acétylcholinomimétiques », ou « leptocurares », possèdent également par leurs fonctions chimiques et leur configuration stérique, la possibilité d'occuper les récepteurs spécifiques, mais ils ont, en plus des substances curarimimétiques, des propriétés dépolarisantes sur la plaque qui entraînent une inhibition de la plaque comme le ferait un excès d'acétylcholine, avec la différence qu'ils ne sont pas rapidement détruits comme l'acétylcholine.

L'ion K^+ agirait également au niveau de la plaque en diminuant l'amplitude de ppm. De même Mg^{++} diminuerait l'action dépolarisante de l'acétylcholine au niveau de la plaque.

4° TRANSMISSION PLAQUE - FIBRE MUSCULAIRE.

Nous l'avons vu, cette transmission est d'ordre purement électrique. Cette phase de la transmission neuromusculaire peut donc être influencée par des substances faisant varier de façon spécifique ou non l'excitabilité du tissu musculaire.

C'est ainsi que suivant la concentration, l'ion Ca^{++} augmente ou diminue l'excitabilité de la membrane musculaire, favorisant ou au contraire empêchant la transmission de l'influx musculaire.

De même, le Mg^{++} diminue cette excitabilité.

Le K^+ augmente cette excitabilité et favorise donc la transmission (cette variation d'excitabilité, étant liée aux variations de polarisation des membranes cellulaires et de leur perméabilité aux ions).

5° ACTION SUR LES SYSTEMES CONTRACTILES DE LA FIBRE.

Ces systèmes peuvent constituer le lieux d'action de différentes substances médicamenteuses. Ce sont principalement les inhibiteurs de tout le métabolisme énergétique musculaire (acide mono-iodacétique...).

CHAPITRE II

LA CURARISATION ANTAGONISME et POTENTIALISATION

INTRODUCTION.

I. LA CURARISATION.

- 1° Historique rapide.
- 2° Les curarisants naturels et de synthèse.
- 3° Différentes curarisations :
 - a) par les curarimimétiques
 - b) par les acétylcholinomimétiques
 - c) par les curarisants de type intermédiaire.
- 4° Mécanisme d'action :
 - a) les curarimimétiques
 - b) les acétylcholinomimétiques
 - c) les curarisants de type mixte.

II. ANTAGONISME.

- A) Antagonisme des curarimimétiques.
- 1° Les anticholinestérasiques.
 - 2° Antagonistes à action musculaire directe.
 - 3° Les colorants.
 - 4° Antagonistes non spécifiques.
- B) Antagonisme des acétylcholinomimétiques.

III. POTENTIALISATION.

- 1° Potentialisation propre.
- 2° Action du S K F 525 A.
- 3° Certains anesthésiques.
- 4° Le caronamide.

Nous venons de voir la chaîne compliquée, encore obscure en bien des points, qui assure la transmission d'un influx moteur à la substance contractile et les points sensibles, en particulier la plaque motrice, sur lesquels de très nombreuses molécules chimiques peuvent agir. Parmi ces dernières, une famille particulière semble posséder un privilège presque total, les ammoniums quaternaires. ACHESON [1] généralise ce privilège aux cations en insistant sur la nécessité, pour agir au niveau de la plaque, d'une fonction fortement ionisée, de caractère cationique ; dans le domaine de la chimie organique, la fonction ammonium quaternaire remplit bien ces conditions et ouvre des possibilités immenses et presque infinies.

Des molécules, sans action propre sur la transmission nerf-muscle aux doses habituelles, peuvent influencer la curarisation soit en l'antagonisant : on observe un retour de la contraction — soit en potentialisant ou sensibilisant l'action de la molécule curarisante ; on observe alors un approfondissement de la curarisation dans des proportions quelquefois importantes.

I. — LA CURARISATION

1° HISTORIQUE RAPIDE.

Nous avons extrait ces quelques points d'histoire, de la conférence du Professeur J. CHEYMOL sur les « Curares naturels et Curares de synthèse » (1949) [55].

Si la curarisation et les préparations curarisantes d'un point de vue scientifique ne sont connues que depuis un nombre limité d'années (Travaux de Cl. BERNARD, 1856), le phénomène et leurs conséquences fâcheuses le sont depuis beaucoup plus longtemps.

En effet, les Indiens d'Amérique utilisaient ces « poisons » pour rendre leurs flèches plus meurtrières soit pour la chasse, soit pour se défendre et au début du XVI^e siècle, des conquistadores espagnols firent une triste expérience de la curarisation ; la mort était rendue particulièrement pénible par le fait que la paralysie gagnait progressivement tout le corps, alors que le mourant conservait toute sa lucidité.

Ces poisons de flèche furent difficiles à connaître, en raison du caractère sacré que revêtait leur préparation et de la complexité de leur composition, connue seulement des « sorciers » ou des « initiés ».

Toutefois, les premiers curares furent rapportés en Europe par Sir Walter RALEIGH en 1595 ; LA CONDAMINE en ramena, le premier, quelques échantillons en France (1745).

Les curares étaient classés d'après leur mode de présentation : en tubes, en pots ou en Calebasses. Leur composition et leur activité variaient grandement, suivant l'origine géographique et botanique, la préparation et l'authenticité des échantillons recueillis. Cette inconstance en rendit l'étude particulièrement difficile.

Des recherches botaniques sur les espèces utilisées par les indiens, l'extraction et l'analyse des principes actifs de ces plantes firent faire un très grand pas à ce nouveau chapitre de la Pharmacologie.

En effet, entre 1930 et 1940, quatre équipes de chimistes :

SPAETH en Autriche,
KING en Angleterre,
WINTERSTEINER en Amérique,
et WIELAND en Allemagne,

obtinrent des composés purs, cristallisés et de structure bien définie pour certains.

Parmi ceux-ci, le chlorure de *d*-tubocurarine fit l'objet d'une large expérimentation et fut rapidement apprécié des cliniciens.

Partant de la structure de cette molécule type, de très nombreux composés de synthèse furent obtenus par la suite.

2° LES CURARISANTS NATURELS ET DE SYNTHESE.

a) NATURELS :

On avait longtemps pensé que les plantes rentrant dans la composition du curare appartenaient toutes à la famille des Loganiacées (*Strychnos toxifera* ou *lethalis*) ; l'étude de WIELAND et de son école a permis l'isolement des principes extrêmement toxiques : les *toxiférines*, la *strychnoléthaline* et la *curaléthaline* de structure indolique.

Cette étude fort complexe n'est pas terminée. Plus fructueuse a été l'étude des principes actifs d'une Ménispermacée, *Chondrodendron tomentosum* (1) qui rentrerait dans la composition des curares présentés en tubes et en pots. En effet, KING puis WINTERSTEINER isolèrent la *d*-tubocurarine : alcaloïde en C₃₈ de structure bis-benzyltétrahydroisoquinoléine à fonction ammonium quaternaire en cycle fermé par deux fonctions éther-oxyde de phénol (fig. 8).

(1) Et non *Chondodendron*, comme on le trouve souvent écrit. Voir à ce sujet T.A. HENRY [154] et W. HILL cité par H. KING [177].

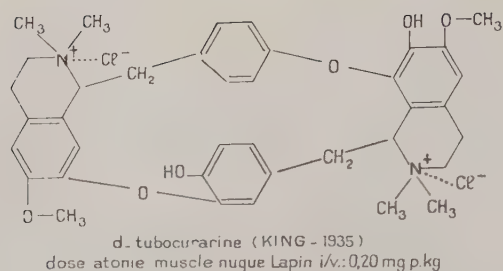


FIGURE 8.

Constitution de la d-tubocurarine.
(KING 1935 [176]).

Signalons enfin les propriétés curarisantes d'une Légumineuse du genre *Erythrina*. Une étude chimique permit l'isolement des α et β -erythroïdines et la préparation de composés voisins, parmi lesquels la dihydro- β -erythroïdine. Ces molécules présentent la particularité de posséder une fonction amine tertiaire, contrairement à tous les autres composés curarisants et, fait plus frappant, leur quaternisation supprime toute activité curarisante.

b) CURARISANTS DE SYNTHÈSE :

Plusieurs conférences du Professeur CHEYMOL ont été consacrées à ce sujet [55-56-57] ; nous y avons puisé les quelques idées générales résumées sur cette question (voir aussi la très complète revue de D. BOVET (1959) [27]).

L'importance de la fonction ammonium quaternaire pour obtenir des propriétés curarisantes a été mise en évidence depuis fort longtemps par BROWN et FRASER (1867) [35-36-37] et RABUTEAU (1873) [243] qui avaient établi la règle suivante : « les sels d'ammonium quaternaire sont des poisons paralyso-moteurs ou curarisants. »

Le « Curaryl »*, utilisé dès 1927 par BREMER en Belgique et LAPICQUE en France, est le premier curarisant de synthèse utilisé avec succès dans l'expérimentation : il n'est autre que l'iodure de triméthyl-octyl-ammonium.

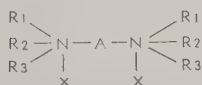
Mais les molécules possédant une seule fonction ammonium quaternaire présentent des actions secondaires souvent fâcheuses : muscarinique, nicotinique... ; en 1901, WILLSTAETTER et HEUBNER [294] ont le mérite de montrer que dans une molécule l'existence de deux fonctions ammonium séparées par une chaîne, diminuait grandement ces effets secondaires.

Ces faits restaient peu connus et c'est la découverte de la *d*-tubocurarine cristallisée active à faible dose et l'étude de sa structure, qui donnèrent un rapide départ aux innombrables travaux sur les curarisants de synthèse construits sur le modèle de cet alcaloïde (fig. 8).

L'étude de molécules voisines a prouvé la nécessité, pour avoir une haute activité curarisante :

- d'un azote pentavalent (ammonium quaternaire),
- de deux fonctions ammonium quaternaire,
- d'une distance bien définie entre ces 2 fonctions.

Ceci conduit à un schéma très simplifié et très général du curarisant de synthèse, emprunté au Professeur J. CHEYMOL :



dans lequel peuvent varier :

- le motif central A,
- les radicaux R_1 R_2 R_3 (alcoyle ou aryle),
- le radical acide X (halogène ou autre).

Pour obtenir une action curarisante, seule est indispensable, à quelques exceptions près, la fonction ammonium quaternaire ; mais la présence de deux de ces fonctions à une distance optimum fournit des molécules hautement actives. Cette distance optimum correspond suivant les motifs à dix atomes ou seize atomes ; celle-ci serait de 14 Å mais pourrait, toutefois, varier de 6 à 19 Å (LANDS [198] et WASER [292]).

Pour les autres radicaux, il n'existe pas de règles absolues : il est ainsi possible de créer de nombreuses substances curarisantes à propriétés nuancées.

A côté de la *d*-tubocurarine, un autre modèle a été largement utilisé : la choline ; de nombreux esters ou éthers de la choline sont des molécules curarisantes de très grande activité :

par exemple : — la succinylcholine et autres esters de diacide,
— les dérivés de la bis-carbamoylcholine qui figurent parmi les curarisants de synthèse les plus actifs.

Le monopole de la fonction ammonium quaternaire n'est pas absolu. Plusieurs composés dépourvus d'une telle fonction, sont capables d'inhiber

la transmission neuromusculaire ; mais ils sont toujours moins actifs que les dérivés ammoniums correspondants.

Citons :

Des sulfoniums de différents types :

- trialkylsulfoniums (BROWN et FRASER, 1872 [37] ; HUNT et RENSHAW [159]),
- analogues sulfoniums du décaméthonium et de divers méthoniums (WALKER [289] ; PROTIVA [241] ; VANECEK et VOTAVA [282]),
- analogues sulfoniums de la succinylcholine (PROTIVA [241] ; DELLA BELLA et coll. [91-92]),
- dérivés de la thio-urée (CHEYMOL et coll. [74]).

Ces quelques molécules soufrées pourraient faire partie de notre travail expérimental, mais la modification de la curarisation qu'elles provoquent n'est pas une propriété exceptionnelle ; elle rentre dans le cadre général des effets réciproques d'un curarisant sur un autre : addition ou antagonisme suivant que le type de curarisation est identique ou différent (1).

Des arsoniums, phosphoniums et des ions métalliques complexes [96].

3° DIFFÉRENTES CURARISATIONS.

Si on analyse avec soin les paralysies que produisent tous ces composés de synthèse, des différences fondamentales apparaissent.

Il est ainsi possible de distinguer deux grands types de curarisation et partant, de curarisants :

- les curarimimétiques,
- les acétylcholinomimétiques.

a) Analysons la curarisation obtenue avec le CHLORURE DE *d*-TUBOCURARINE chez l'animal, le Chat par exemple. Ces observations peuvent s'appliquer à la plupart des mammifères (J. CHEYMOL [59], E. ZAIMIS [299], expériences personnelles).

— 1. La paralysie est progressive, sans aucune phase d'excitation, sans fasciculation ni potentialisation de la contraction maximale. Ainsi, chez le Chat et surtout chez le Lapin éveillé, on observe, par perfusion intraveineuse lente une atonie qui se porte sur les muscles des oreilles

(1) Voir p. 43 et 45.

(Lapin), puis du cou, avec chute de la tête ; après arrêt de la perfusion, l'animal reprend lentement sa tonicité.

— 2. Le muscle paralysé par la *d*-tubocurarine ne peut pas soutenir un téтанos.

— 3. Il existe par répétition des doses une augmentation de la sensibilité : c'est-à-dire que pour obtenir un même effet, il faudra administrer des doses de plus en plus faibles.

Ainsi sur le muscle tibial du Chat une dose de 320 $\mu\text{g/kg}$ intraveineuse conduit à une curarisation d'environ 90 p. 100 de la hauteur de contraction. Après retour à la hauteur d'origine (environ 1 heure après l'injection) une dose de 250 μg suffira, puis 200 μg à la 3^e injection.

— 4. La paralysie est rapidement antagonisée par les anticholinestésiques, éserine, néostigmine (voir fig. 9), par l'édrophonium, par des

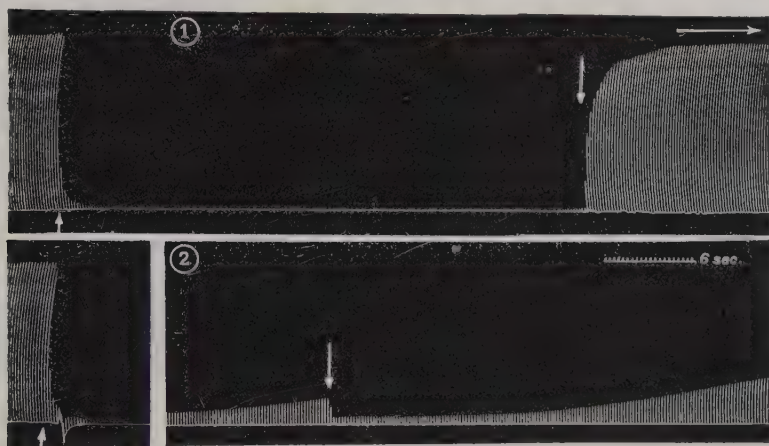


FIGURE 9.

Différentes curarisations de la préparation nerf sciatique-tibial antérieur du Chat (injections dans l'artère rénale).

Tracé 1 :	A gauche	↑	<i>d</i> -tubocurarine	200 $\mu\text{g/kg}$
	A droite	↓	néostigmine	100 $\mu\text{g/kg}$
Tracé 2 :	A gauche	↑	606 H.C.	7,5 $\mu\text{g/kg}$
	A droite	↓	néostigmine	100 $\mu\text{g/kg}$

Ext. de [57].

doses bien choisies d'un acétylcholinomimétique, et par une téтанisation préalable. La téтанisation après curarisation partielle ne conduit qu'à une légère reprise des contractions.

— 5. La paralysie est potentialisée par certaines substances élevant le seuil de sensibilité de la plaque à l'acétylcholine.

— 6. Si la *d*-tubocurarine est injectée dans un muscle tibial dénervé de Chat (section aseptique du nerf moteur 1 à 2 semaines auparavant, de manière à obtenir une dégénérescence des terminaisons nerveuses), aucun signe de contracture n'apparaît.

— 7. Le muscle tibial du Chat (muscle blanc) est généralement moins touché par la *d*-tubocurarine que le muscle soléaire (muscle rouge) (voir fig. 10).

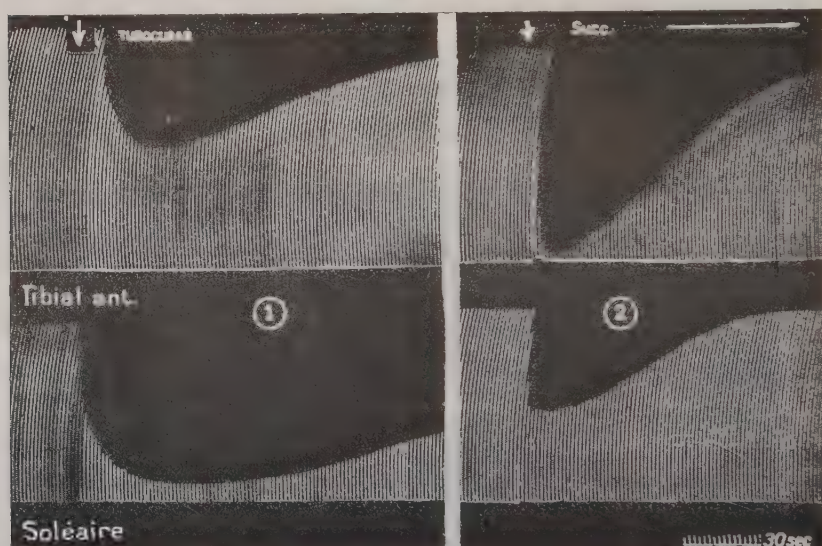


FIGURE 10.

Action des curarimimétiques et des acétylcholinomimétiques sur les muscles rouge (soléaire) et blanc (tibial antérieur) du Chat.

Tracé 1 : Action de la *d*-tubocurarine 300 µg/kg

Tracé 2 : Action de la succinylcholine 100 µg/kg

Ext. de [59].

(Cliché réduit aux 11/15°).

De même chez l'Oiseau (pigeon ou poussin de 8 jours), l'injection intraveineuse de *d*-tubocurarine conduit à une paralysie flasque de tous les muscles (fig. 11). De même dans le cas du batracien, l'animal paralysé par la *d*-tubocurarine est incapable de se retourner. Sur le *rectus abdominis* isolé de Grenouille, une contraction engendrée par l'acétyl-

choline est diminuée ou totalement supprimée, selon la dose, par la *d*-tubocurarine.

Ce mode de curarisation peut être retrouvé avec de nombreuses substances de synthèse. Citons :

- l'iodo-éthylate de gallamine (Flaxedil*),
- série des 300 HC dérivés de la bis (tri-alcoylaminoéthyl) pipérazine [147],
- série des 500 HC dérivés de bis (tri-alcoylamino-ethoxy) éthylène [146],
- série des 700 HC dérivés quaternaires du diénœstrol [145], etc...

Par le fait qu'elles reproduisent exactement les actions de la *d*-tubocurarine, ces substances sont groupées sous la dénomination générale de « curarimimétiques ».

b) AVEC LE 606 HC OU LE DÉCAMÉTHONIUM (C_{10}), on peut observer chez le *Chat* seulement, que :

— 1. La paralysie est généralement précédée d'une potentialisation de la contraction maximale et de fasciculations de tous les muscles.

— 2. Un tétanos est bien soutenu pendant la paralysie, celui-ci n'exerce aucun effet antagoniste.

— 3. Le blocage n'est pas antagonisé par les anticholinestérasiques (ésérine, néostigmine), mais au contraire augmenté (voir fig. 9).

— 4. Le blocage est antagonisé par une dose bien choisie de *d*-tubocurarine. On observe donc chez le *Chat* un antagonisme entre les 2 classes de paralysants.

— 5. Sur le muscle dénervé, on obtient une contracture typique.

— 6. Le muscle présente une sensibilité accrue, au moins pour les 2 ou 3 premières doses.

— 7. Le muscle tibial (muscle blanc) est beaucoup plus sensible que le muscle soléaire (muscle rouge) au 606 HC ou au décaméthonium (voir fig. 10).

— 8. Le taux de K du plasma ou du liquide de perfusion du muscle traité augmente après injection de 606 HC.

Sur l'Oiseau (Technique de BUTTLE et ZAIMIS [48]) : On observe, après injection intraveineuse, un phénomène très curieux de contracture des pattes et rejet de la tête en arrière : les muscles des ailes n'étant pas contracturés, mais flaccides (voir fig. 11).

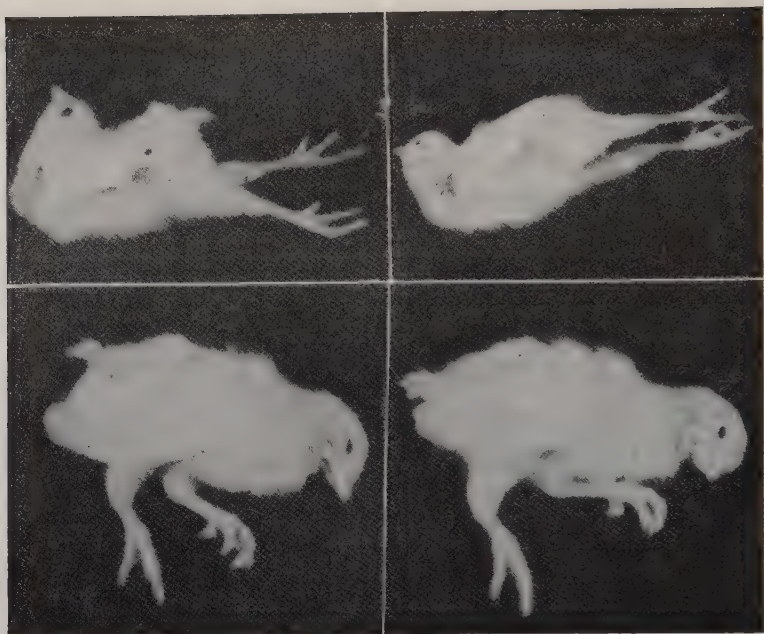


FIGURE 11.

*Différenciation des deux types de curarisants sur le poussin de huit jours
(injections dans la veine jugulaire).*

En haut : Contracture due à un acétylcholinomimétique.

En bas : Paralysie flasque due à un curarimimétique.

Ext. de [59].

Sur le rectus abdominis de Grenouille : On observe directement une contracture du muscle après addition au bain de 606 HC ou de C_{10} .

D'autres substances agissent de la même façon : la succinylcholine... ; elles sont généralement groupées sous la dénomination d'« acétylcholinomimétiques », car elles agissent comme le ferait un excès d'acétylcholine.

c) Mais ces substances 606 HC, C_{10} , conduisent chez le Lapin, le Chien, le Singe... à un troisième type de curarisation intermédiaire entre les 2 types précédemment décrits :

- 1. Un tétanos n'est pas bien soutenu et antagonise le blocage nerf-muscle.
- 2. Le blocage nerf-muscle est antagonisé par la néostigmine.
- 3. Il est approfondi par la *d*-tubocurarine.
- 4. Il présente la potentialisation et les fasciculations primitives lors d'une première injection.
- 5. La sensibilité est fortement diminuée à la seconde dose et aux suivantes.

Ce type intermédiaire peut d'ailleurs être observé chez le Chat (ZAIMIS [298]) avec de nombreuses substances : tridécaméthonium, dérivés du 606 HC, dans lequel un radical méthyle est remplacé par un radical nitrobenzyle ou chlorobenzyle (J. CHEYMOL : non publié)... Celles-ci chez l'Oiseau conduisent à une contracture faible et fugace laissant la place à une paralysie flasque.

4° MECANISME D'ACTION.

Avant Cl. BERNARD, on ne connaissait pratiquement rien sur le mécanisme d'action du curare : action paralysante, action sur le cerveau, la mort provenait de l'arrêt respiratoire.

Claude BERNARD, dans ses leçons sur le curare au Collège de France (1857) [24], nous a permis de comprendre comment agissait une substance curarisante. Ses expériences mémorables, sur la Grenouille, conservent toute leur valeur — et tous les travaux qui ont été effectués jusqu'à ce jour n'ont pu que confirmer l'hypothèse émise par ce grand savant, à savoir :

— après curarisation le nerf moteur n'est pas touché, car un nerf isolé baignant dans une solution de curare peut transmettre l'influx et conduire à la contraction ;

— le muscle lui-même n'est pas touché, car il est capable de se contracter si on l'excite directement ;

— et pourtant le curare paralyse le muscle : mais l'intoxication se limite à la jonction nerf-muscle et empêche, à ce niveau, le passage de l'influx moteur.

Quelques précisions sont venues, par la suite, éclairer ce problème. Elles permettent de nouvelles hypothèses sur le mode d'action des différentes molécules dont nous venons d'analyser les effets paralysants.

a) LES CURARIMIMÉTIQUES :

On admet généralement que les molécules de curarisants atteignent par la voie circulatoire le muscle et plus particulièrement la plaque motrice : elles se fixent sur des récepteurs spécifiques qui sont, sans doute, les mêmes que ceux de l'acétylcholine et empêchent ainsi le transmetteur normal de produire son action dépolarisante. Il se formerait un équilibre de compétition pour l'occupation de ces récepteurs entre les molécules de curarisants et celles d'acétylcholine, équilibre qui serait régi par la loi d'action de masse. D'où le nom qui leur est souvent donné d'« inhibiteurs compétitifs » de la transmission neuromusculaire.

En effet, sur la préparation fibre nerveuse - fibre musculaire isolée (1) on observe par addition au bain de *d*-tubocurarine une diminution progressive de l'amplitude du potentiel de plaque (ppm) qui, à partir d'un niveau critique, n'engendre plus le potentiel d'action musculaire : le phénomène est d'ailleurs plus net quand on observe une décuration : l'excitation électrique du nerf engendre un potentiel de plaque dont l'amplitude est inférieure au niveau critique : aucun potentiel d'action musculaire n'apparaît ; puis au fur et à mesure que le curarisant s'élimine — par lavage, destruction ou élimination — l'amplitude du ppm augmente et au-dessus du niveau critique ce ppm engendre le potentiel d'action musculaire entraînant la contraction de la fibre (fig. 7).

L'excitabilité nerveuse n'est absolument pas touchée aux doses utiles pour curariser, de même l'excitabilité de la fibre musculaire.

Pendant l'action du curare le transmetteur est normalement libéré par les terminaisons nerveuses, mais l'acétylcholine ne peut plus exercer son action dépolarisante sur la plaque motrice, les récepteurs étant partiellement ou totalement occupés par les molécules de curarisant.

La genèse d'un potentiel de plaque d'amplitude suffisante dépendra donc, d'une part de la quantité d'acétylcholine présente après stimulation des terminaisons nerveuses motrices, d'autre part de la quantité de curare qui arrive à la plaque motrice et de son affinité pour les récepteurs.

Toutes substances susceptibles d'empêcher la destruction de l'acétylcholine s'oppose donc à l'action paralysante du curare.

Sur un muscle entier, on observe une diminution progressive de la hauteur de contraction après injection de *d*-tubocurarine : cet aspect progressif dépend uniquement du nombre de fibres qui participent à la contraction. Au début d'une curarisation, les premières molécules de curarisant ne touchent que quelques fibres du muscle, puis, si la dose est suffisante, toutes sont progressivement touchées. Après le maximum de l'action, les molécules sont éliminées petit à petit et les fibres les unes après les autres reprennent leur contraction.

On peut ainsi observer une paralysie flasque sur tous les muscles striés, quelle que soit l'espèce animale utilisée. Seule varie suivant l'espèce animale la sensibilité aux molécules curarisantes (2).

De plus, chez un même animal, on observe une variation de sensibilité suivant les muscles : les muscles du cou étant plus rapidement et plus profondément touchés que le diaphragme qui est le dernier atteint.

(1) Voir p. 29 et 30.

(2) Voir p. 64.

b) LES ACÉTYLCHOLINOMIMÉTIQUES :

L'étude du mécanisme d'action de ces substances est principalement due à PATON qui, dans plusieurs études [47-228-229-230-232], fournit une explication du mécanisme intime de ces substances dépolarisantes : ces travaux ont été effectués principalement avec le C_{10} et la succinyl-dicholine. Voici rapidement décrite l'explication qui découle de ces expériences sur le Chat.

Quand on compare, dans le détail, les caractéristiques d'une curarisation par la *d*-tubocurarine et par le C_{10} , on est étonné de voir qu'elles sont pour la plupart différentes et mêmes opposées. Et pourtant ces substances conduisent toutes deux à une paralysie neuromusculaire et répondent à première vue aux critères classiques définis par Cl. BERNARD, agissant toutes deux au même niveau, sur la plaque motrice. La différence fondamentale réside dans le fait que le C_{10} peut, comme le fait l'acétylcholine, dépolariser de façon spécifique les plaques motrices d'une fibre musculaire : c'est-à-dire qu'il court-circuite simplement la membrane de la plaque, la rendant ainsi négative par rapport à la fibre musculaire adjacente. D'ailleurs, l'acétylcholine et le C_{10} peuvent sommer leurs effets sur la plaque motrice.

Malgré cela, le C_{10} est capable de conduire à un blocage de la transmission neuromusculaire, c'est-à-dire d'empêcher l'action physiologique de l'acétylcholine. Deux hypothèses peuvent être émises pour expliquer ce phénomène *a priori* contradictoire :

1°) Hypothèse d'une « compétition cachée » : le C_{10} , s'il est dépolarisant, doit se fixer sur les récepteurs spécifiques de la plaque avant d'agir. Il entrerait ainsi en compétition avec l'acétylcholine pour la possession de ces récepteurs et l'empêcherait de produire son effet stimulant normal sur la plaque. Le C_{10} serait donc avant tout un « compétitif » comme la *d*-tubocurarine. Mais cette explication ne saurait résister à un raisonnement plus approfondi. En effet, pour maintenir une telle hypothèse, il faudrait que le C_{10} — dont on connaît les propriétés acétylcholinomimétiques susceptibles de s'ajouter à celles de l'acétylcholine elle-même — puisse s'opposer à une double action dépolarisante, la sienne propre et celle de l'acétylcholine physiologiquement présente : ce qui est absolument impossible.

Cette hypothèse ne peut donc pas être retenue.

2°) Une autre hypothèse diamétralement opposée admettrait une « dépolarisation totale » de la plaque ; le transmetteur physiologique ne pourrait rien faire de plus. En ce sens l'acétylcholine ne serait plus

capable d'agir, mais la plaque serait malgré tout dépolarisée et devrait exciter continuellement la fibre musculaire avec comme simple limite la période réfractaire. Mais en fait, la phase stimulante observée chez l'animal est transitoire et cède rapidement la place au blocage lui-même. Cette explication n'est donc pas non plus satisfaisante.

L'étude des potentiels de plaque et des potentiels d'action musculaire pendant un blocage par C_{10} , a permis de mettre en évidence autour de la plaque, une « aire désertique » de complète inexcitabilité. Le ppm s'établit normalement ; on peut même mettre en évidence tout près de la plaque un potentiel d'action musculaire qui serait dans les conditions normales, suffisant pour exciter, mais qui est inefficace du fait de la présence de cette zone d'inexcitabilité totale, autour de la plaque motrice. Le potentiel d'action musculaire ne peut plus se propager.

L'existence de cette « aire désertique » au niveau de la région de la plaque motrice a été prouvée par plusieurs expériences de BURNS et PATON [47] :

— Une excitation directe de la fibre musculaire ne peut se propager à travers cette « aire désertique » ;

— Si on détermine tout le long d'une fibre musculaire le voltage nécessaire pour produire un potentiel d'action musculaire standard, on peut vérifier que sur le muscle normal ou sur le muscle curarisé par la *d*-tubocurarine, ce voltage nécessaire est le même tout le long de la fibre. Au contraire, avec un muscle curarisé par le C_{10} , le voltage doit être augmenté jusqu'à 25 fois quand l'électrode est placée au centre de la région de la plaque.

Le C_{10} bloque donc la transmission nerf-muscle en entraînant au niveau de la plaque motrice une zone d'inexcitabilité électrique qui empêche toute transmission de s'effectuer.

Mais cette inexcitabilité ne s'établit pas de façon instantanée, il faut que la dépolarisation soit prolongée et c'est cette persistance qui est la cause de l'inexcitabilité. Le degré de blocage n'est pas fonction de l'intensité de l'action dépolarisante, mais simplement de sa durée.

Mais comment une dépolarisation persistante peut-elle conduire à cette inexcitabilité locale ? On peut assimiler ce phénomène à un blocage cathodique obtenu sur un nerf périphérique par application prolongée d'une cathode sur ce nerf : on a admis généralement que ce blocage était dû à une fuite de potassium de la surface dépolarisée. Des expériences ont pu prouver qu'après administration de C_{10} ou de succinylcholine, on observait une fuite de potassium soit d'un muscle perfusé,

soit de tous les muscles d'un animal entier : dans chaque cas, la concentration en potassium augmentait dans le liquide de perfusion à la sortie du muscle ou dans le plasma de l'animal. Cette fuite du potassium vraisemblablement associée à une rentrée de sodium, créerait un déséquilibre ionique de part et d'autre de la membrane de plaque, rendant cette membrane inexcitable.

Il faut faire à propos de cette théorie sur le mécanisme d'action des acétylcholinomimétiques une réserve importante, à savoir qu'elle n'est valable que pour certaines espèces animales : le Chat, le Rat, la Souris, le Cobaye. M^{me} ZAIMIS a même montré [162-299] que si le tibial du Chat réagissait de façon pure au C₁₀, il n'en était pas de même pour le soléaire avec lequel les effets dépolarisants de C₁₀ évoluaient par répétition des doses vers une action compétitive (1). Cette double action se retrouve dans le type de curarisants dits « intermédiaires » ou « mixtes ».

Il faut donc reconnaître avec JEWELL et ZAIMIS [162] que le terme de « curarisants » n'est pas acceptable pour les dépolarisants, car la fibre musculaire subit une atteinte certaine.

c) CURARISANTS DE TYPE MIXTE :

Ce type de curarisation est observé avec certaines molécules particulières chez le Chat, le Poussin, la Grenouille... et avec les acétylcholinomimétiques chez certaines espèces comme le Lapin et le Chien.

Pratiquement, la curarisation commence comme une curarisation par dépolarisation, puis évolue plus ou moins rapidement suivant l'espèce animale et le muscle considérés vers une action compétitive.

Chez le Lapin, par exemple, une première dose de 606 HC provoque des fasciculations et une contracture, puis le blocage. Pendant le blocage, son action se transforme en compétition, si bien qu'une 2^e dose ne présente que peu ou même pas du tout, ces phénomènes primitifs précédant le blocage : celui-ci peut être antagonisé par la néostigmine et l'édrophonium.

On peut rapprocher ce phénomène de celui de « tachyphylaxie » observée avec la muscarine, la nicotine, certaines amines sympathomimétiques... qui stimulent d'abord puis désensibilisent les récepteurs à leur action propre ou à celle de substances semblables, comme s'il y avait « saturation » ou « accommodation ». On a pu l'observer avec l'acétylcholine elle-même après avoir bloqué les cholinestérases (BARNES et DUFF [18], THESLEFF [273]).

PATON [230] se demande même si chez l'Homme, les acétylcholinomimétiques utilisés en anesthésiologie ne présentent pas cette particularité. Aucune preuve n'existe à l'heure actuelle, mais la chose reste possible,

(1) Des expériences personnelles confirment ce point de vue.

car dans le domaine pharmacologique, plusieurs raisons laissent à penser que les médicaments dépolarisants, surtout s'ils sont administrés pendant longtemps à forte dose ou associés à des compétitifs, peuvent perdre quelques-unes de leurs caractéristiques ou altérer la réponse de la plaque à d'autres médicaments.

FOLDES [118-119] a été le premier à affirmer que les acétylcholinomimétiques provoquaient chez l'Homme un blocage de type mixte.

Comment expliquer ces faits ?

On pourrait faire les hypothèses suivantes : Le produit se fixe sur les récepteurs spécifiques de la plaque motrice ; il se comporte donc, au moins à titre latent, comme un compétitif de l'acétylcholine. Mais il possède une activité dépolarisante et celle-ci peut :

- soit être fugace sur l'espèce animale ou le muscle envisagés ;
- soit provoquer sur la plaque motrice considérée une modification telle que celle-ci s'oppose par la suite à l'action dépolarisante du produit ⁽¹⁾.

Ainsi seul subsisterait le caractère compétitif vis-à-vis de l'acétylcholine. D. BOVET [26] admet que la forme de la molécule active est le caractère déterminant des propriétés dépolarisantes (d'où sa classification en lepto- et pachy-curares). PATON met en jeu l'affinité lipodique de la molécule : les molécules les moins lipophiles seraient les plus dépolarisantes.

On peut admettre que la présence d'au moins deux groupements méthyle est une condition nécessaire, mais non suffisante pour avoir un effet dépolarisant.

II. — ANTAGONISME

Plusieurs revues ont été consacrées à ce problème. Citons parmi les principales :

ACHESON [1], HUNT et KUFFLER [157], WESCOE et RIKER [293], RANDALL [245], CHEYMOL [57].

La plupart de ces études traitent des antagonistes des curarimimétiques, groupe le plus important, alors que la paralysie par les acétylcholinomimétiques est beaucoup plus difficile à antagoniser et seules les publications de PATON sur le mode d'action des substances dépolarisantes parlent des antagonistes éventuels. Nous allons passer en revue les différents composés connus jusqu'ici et donner l'explication généralement admise, de leur mécanisme d'action.

(1) E. J. ARIËNS propose, d'après des considérations mathématiques sur l'affinité et l'activité intrinsèque, une théorie générale de l'inhibition compétitive, applicable à ce type de composés [8 bis].

A. — ANTAGONISME DES CURARIMIMÉTIQUES.

1° LES ANTICHOLINESTÉASIQUES :

Ce sont les antagonistes les plus anciennement connus, leur mécanisme d'action est maintenant totalement établi et s'intègre clairement dans le mécanisme d'action des curarimimétiques. Ils présentent en effet une action inhibitrice des cholinestérases et protègent de ce fait l'acétylcholine de son hydrolyse enzymatique. L'équilibre compétitif au niveau de la plaque motrice étant régi par la loi d'action de masse, il est normal de penser que toute substance, susceptible d'augmenter la concentration locale en acétylcholine, agit dans le sens de la restauration de la contraction musculaire inhibée par un curarisant. C'est ainsi que les anticholinestérasiques protégeant l'acétylcholine, font évoluer l'équilibre en sa faveur et de ce fait antagonise l'action des curarimimétiques.

L'ésérine ou physostigmine est le premier antagoniste des curares connus depuis les travaux de PAL (1900) [227] et de ROTHBERGER (1901) [256] ; mais ses propriétés anticholinestérasiques ne furent mises en évidence que plus tard par LOEWI (1926) [206]. Les propriétés expliquant l'action antagoniste du curare ont été étudiées depuis, avec plus de détails : l'antagonisme est lent et progressif (voir fig. 12), on observe après curarisation un accroissement et un allongement du potentiel de plaque. Seule l'action anti-estérasique peut être mise en cause ; d'ailleurs par action de l'ésérine seule sur une préparation musculaire, on observe après un temps de latence, une réaction fasciculaire explicable par l'accumulation progressive d'acétylcholine conduisant à la production d'un potentiel d'action musculaire à répétition. De même, sur un muscle stimulé indirectement par l'intermédiaire de son nerf moteur, il se produit une potentialisation non immédiate de la contraction.

Il en est de même avec les dérivés organophosphorés, le diisopropyl-fluoro-phosphate ou D.F.P. par exemple, plus récemment découvert : son action anticholinestérasique est très puissante et très prolongée. Les actions musculaires sont très voisines de celles observées avec l'ésérine et sont uniquement imputables à l'action anti-estérasique. L'action anti-curare est toutefois encore plus lente à s'établir que dans le cas de l'ésérine.

L'analyse de la structure chimique de l'ésérine a conduit E. STEDMAN (1926) [270] à lier l'activité anti-estérasique de cet alcaloïde à sa fonction carbamate. L'auteur a été ainsi amené à synthétiser des carbamates de phénol à activité ésérinique. Une substance voisine de celles étudiées par STEDMAN a été retenue par AESCHLIMANN et

REINERT (1931) [2], c'est la néostigmine ou méthylsulfate du diméthylcarbamate de 3-hydroxyphényl-triméthyl-ammonium.

Ce produit — comme d'ailleurs des produits voisins synthétisés depuis (Pyridostigmine *, séries décrites par J. SALLÉ [258], par BÜLBRING et CHOU [45]) — présentent des propriétés anticholinergiques très nettes, toutefois différentes de celle de l'ésérine (voir fig. 12) ; on observe en effet une action double :

— une action anti-estérasique — due à la fonction carbamate mise en évidence *in vitro* et *in vivo*, responsable de tous les effets secondaires cholinergiques (salivation, stimulation du péri-tatisme intestinal...) ;

— une action musculaire directe — due à la présence de l'ion ammonium — nettement prouvée par des expériences rapportées par WESCOE et RIKER [293] sur différentes préparations neuromusculaires ou de

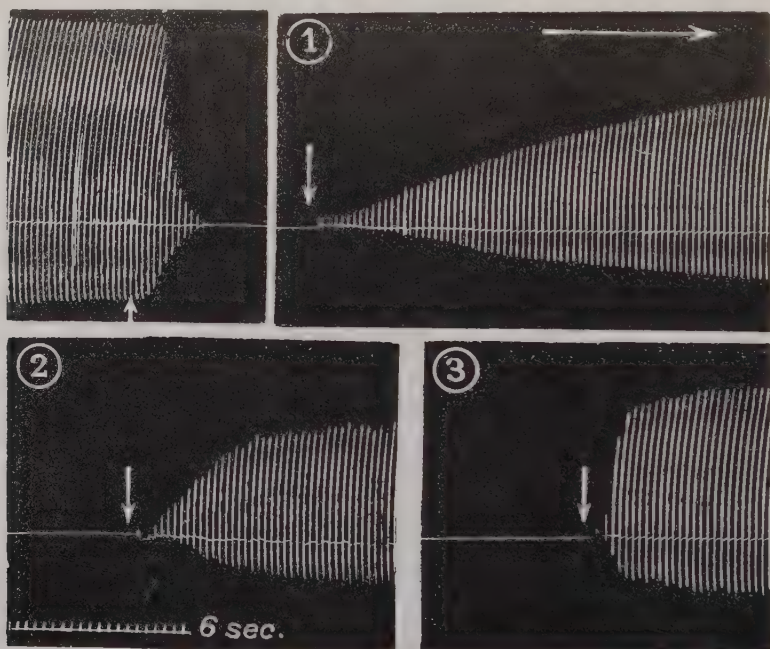


FIGURE 12.

Action des principaux antagonistes de la d-tubocurarine sur la préparation nerf sciatique - tibial antérieur du Lapin.

En ↑ : Curarisation par d-tubocurarine.

En 1 ↓ : Salicylate d'ésérine

100 µg/kg

En 2 ↓ : Néostigmine

100 µg/kg

En 3 ↓ : Edrophonium

400 µg/kg

Ext. de [73].

muscle énérvé. Cette composante musculaire est une action identique à celle de l'acétylcholine mais plus prolongée dans le temps (stimulation de la plaque motrice — potentialisation de la contraction obtenue par excitation du nerf — réponse contractile du muscle énérvé...)

L'action antagoniste présente donc deux aspects : une action directe rapide et relativement durable doublée de l'action anticholinestérasique lente et progressive mais prolongée.

Toutefois avec RANDALL [245], on peut conclure que la néostigmine agit d'abord comme un agent anticholinestérasique et secondairement comme un agent stimulant musculaire direct.

2° ANTAGONISTES A ACTION MUSCULAIRE DIRECTE :

Nous sommes conduit par l'étude de la néostigmine à évoquer les antagonistes à action musculaire directe ; celle-ci rentrerait, en effet, partiellement dans ce groupe.

Le représentant le plus actif et le plus employé est constitué par l'Édrophonium ⁽¹⁾ : c'est le chlorure de méta-hydroxyphényl-éthyl-diméthyl-ammonium ; il a été préféré à plusieurs produits voisins, entre autres le méta-hydroxyphényl-triméthyl-ammonium (ou 3-hydroxy T.M.P.A.), pour son coefficient thérapeutique plus favorable et l'absence d'effets secondaires [283].

RANDALL [244-245] a fait une étude détaillée de ses propriétés antagonistes ; il a même proposé une classification des substances curarisantes en réversibles ou non par l'édrophonium.

Son action antagoniste est très rapide (voir fig. 12), très puissante mais fugace. L'absence de propriétés cholinergiques constitue son avantage sur la néostigmine. En effet, *in vitro*, l'édrophonium est cent fois moins anticholinestérasique que la néostigmine. Ses propriétés antagonistes seraient donc principalement dues à son action directe au niveau de la plaque motrice ; il se fixe — comme l'acétylcholine — sur les récepteurs spécifiques de la plaque par sa fonction ammonium quaternaire et y exerce une action dépolarisante : cette action stimulante de la plaque mise en évidence sur de nombreuses préparations musculaires : *rectus* de Grenouille, Pigeon (potentialisation de la contraction obtenue par stimulation du nerf moteur — muscle énérvé...) explique son action antagoniste des curarimimétiques : d'une part, il déplace partiellement les molécules de *d*-tubocurarine, par exemple, d'autre part il augmente l'amplitude du potentiel de plaque motrice, ce qui concourt à restaurer la contraction musculaire. RANDALL admet que ses propriétés anti-estérasiques quoique faibles contribuent à son action anticurare.

D'autre part, comme toutes les molécules ammonium quaternaire

(1) Tensilon *.

dépolarisantes, il est capable de provoquer lui-même, à fortes doses, une paralysie identique à celle obtenue avec les acétylcholinomimétiques.

D'ailleurs toutes les substances acétylcholinomimétiques sont antagonistes de la *d*-tubocurarine et peuvent rentrer dans ce groupe à action musculaire directe : ils déplacent les molécules des curarisants et stimulent la plaque motrice. Toutefois, leur propriété antagoniste des curarimimétiques et leur propriété paralysante propre s'observent à des doses très voisines et se chevauchent facilement, rendant l'expérimentation assez délicate.

3° LES COLORANTS :

Ils constituent un groupe assez homogène que nous étudierons plus longuement au cours de notre travail ; ils agiraient par combinaison avec les molécules de curarisant, les empêchant ainsi de se fixer sur les récepteurs spécifiques. Cette action ne s'exerce qu'à doses relativement élevées et ne différencie pas curarimimétiques et acétylcholinomimétiques ; en effet, leur action ne dépendrait que de leur aptitude à former une combinaison suffisamment stable avec les molécules curarisantes sans préjuger de leur mécanisme d'action.

Ce sont généralement de grosses molécules possédant plusieurs fonctions électro-négatives — groupements sulfonés — susceptibles de réagir avec des cations fortement ionisés. Citons comme type de ce groupe le Rouge Congo (voir fig. 13).

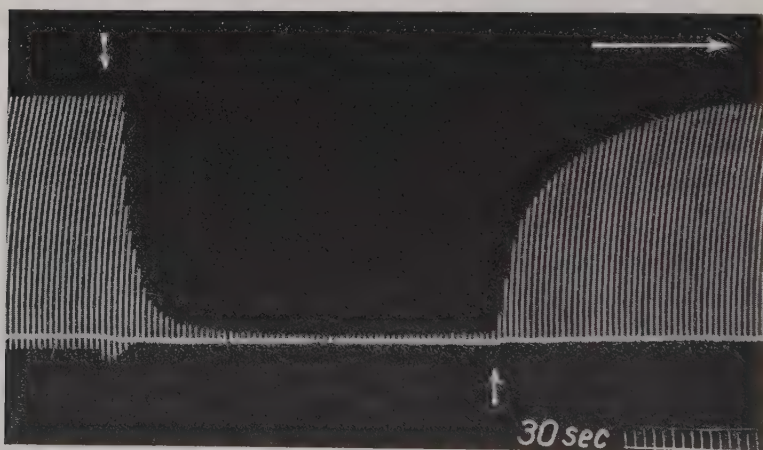


FIGURE 13.

*Action anticurarimimétique du Rouge Congo
sur la préparation nerf sciatique-tibial antérieur du Lapin.*

En ↓	: Curarisation par <i>d</i> -tubocurarine	200 µg/kg
En ↑	: Rouge Congo	100 mg/kg

Ext. de [66].

4° ANTAGONISTES NON SPÉCIFIQUES :

Enfin, dans un dernier groupe d'antagonistes non spécifiques, on peut citer les ions potassium dont les propriétés dépolarisantes générales sont bien connues et seront étudiées plus en détail.

Certains phénols (MOGEY et YOUNG [215]) présentent des propriétés antagonistes, leur mécanisme d'action n'a pas été établi. L'adrénaline, elle-même, possède des propriétés anti-curares fugaces décrites par DALLEMAGNE et PHILIPPOT [89]. Enfin, l'édrophonium, par la fonction phénol en méta, peut partiellement rentrer dans ce groupe.

B. — ANTAGONISME DES ACETYLCHOLINOMIMÉTIQUES :

Si une paralysie par la *d*-tubocurarine ou les curarimimétiques peut facilement trouver un antidote en pratique anesthésiologique, il n'en est pas de même du groupe des acétylcholinomimétiques pour lesquels il n'existe en fait que l'intubation trachéale permettant d'attendre l'élimination spontanée du produit.

Le pentaméthonium et l'hexaméthonium décrits par PATON, se sont montrés capables d'antagoniser un blocage neuromusculaire par le C₁₀ ; leur emploi clinique ne peut être envisagé, toutefois, en raison de leurs actions ganglionnaires.

Tous les curarimimétiques peuvent exercer un effet antagoniste vis-à-vis du blocage par des substances dépolarisantes mais la posologie des antidotes est très délicate à établir, étant donné les propriétés curarisantes propres de ces produits. On suppose que l'action s'effectue par déplacement des substances dépolarisantes au niveau des récepteurs spécifiques de la plaque motrice : l'action dépolarisante prolongée étant ainsi supprimée.

Le « proguanide » ⁽¹⁾ serait capable d'antagoniser l'action d'un acétylcholinomimétique [90].

Enfin, J. CHEYMOL et coll. [61-62-67-71] ont montré l'action antagoniste de la thiamine et de produits voisins vis-à-vis des acétylcholinomimétiques, non pas aux doses vitaminiques mais à fortes doses (fig. 14).

D'autres substances, citées par de BEER [20] et FOLDES [118], le B W 49.204 di-ammonium quaternaire dérivé du pipéridinium et de l'anilinium et le B W 51.212 dérivé du diphényl-méthyl pipérazinium, seraient douées de telles propriétés.

De toute façon, tous ces produits antagonisent le blocage nerf-muscle, mais ne s'opposent pas aux phénomènes ioniques sous-jacents : il faudrait une substance susceptible d'accélérer la sortie des ions sodium des cellules musculaires.

(1) Paludrine *.

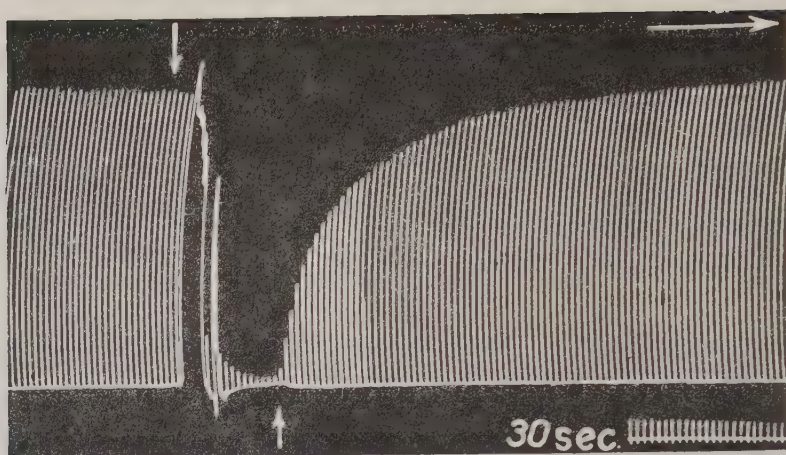


FIGURE 14.

*Action anti-acétylcholinomimétique du chlorhydrate de thiamine
sur la préparation nerf sciatique-tibial antérieur du Chat.*

En ↓	: Iodure de succinylcholine	75 $\mu\text{g/kg}$
En ↑	: Chte de thiamine	25 mg/kg

Ext. de [71].

III. — POTENTIALISATION

C'est un phénomène sur lequel peu de chercheurs se sont penchés : il est pourtant — nous semble-t-il — fort important en clinique humaine ou en anesthésiologie, de s'intéresser de façon précise à un tel problème, à une époque où on administre des « cocktails » aux malades sans préjuger l'influence que ces mélanges thérapeutiques pourraient avoir sur la curarisation qui sera pratiquée ultérieurement.

Il importe tout d'abord de préciser le choix du terme même de potentialisation : cette potentialisation se manifeste par un accroissement, un approfondissement ou une prolongation de la curarisation sous l'influence de différentes substances médicamenteuses. Ces substances ne doivent pas être elles-mêmes curarisantes, car il faudrait parler alors de synergie — par exemple synergie entre hypnotiques ou anesthésiques généraux. Pourrait-on alors parler de sensibilisation de l'organisme, du muscle, de la plaque motrice ? peut-être, mais nous ne connaissons pas suffisamment le mécanisme d'action de ces substances éventuellement « sensibilisantes ». Nous préférons donc parler de *potentialisation*, terme général,

ne préjugant en rien du mécanisme par lequel ces substances agissent. Evidemment une certaine confusion pourrait peut-être se faire avec la « potentialisation de la contraction maximale » correspondant à une augmentation de la réponse musculaire, phénomène classique et bien connu depuis les recherches de BROWN et Von EULER [40] sur la potentialisation post-tétanique.

Pratiquement, nous utiliserons le terme de potentialisation, parlant accessoirement des « effets sensibilisants » de telle molécule vis-à-vis de la curarisation. Plus tard peut-être quand nous aurons des précisions sur le mécanisme d'action de ces substances, un terme plus précis sera-t-il préféré, mais nous en restons pour l'instant à celui-ci.

1° POTENTIALISATION PROPRE :

La première potentialisation décrite par tous les auteurs — dans le cas des curarimimétiques principalement — est la sensibilisation de l'animal ou de la préparation par une dose préalable du produit, même si celle-ci n'a eu aucun effet apparent ou que ces effets apparents aient disparu. Nous avons déjà parlé de ce phénomène dans le chapitre précédent et nous ne savons pas comment l'expliquer. On pourrait faire intervenir la « marge de sécurité » du potentiel de plaque : en effet, celui-ci peut diminuer largement d'amplitude sans que la contraction musculaire ne soit affectée. Peut-être, après une première curarisation, le potentiel de plaque ne serait-il pas revenu à son amplitude initiale, malgré un retour complet des contractions musculaires. Des mesures électriques faites par GUYTON et REEDER [140] chez le Chien, montrent que, après une dose de curarisant conduisant à une paralysie subtotale, toutes traces de curarisation a disparu en 25 min. On ne pourrait donc pas invoquer cet argument. Toutefois, nos expériences sur le Lapin nous ont montré que ce temps de 25 minutes était souvent nécessaire pour que la contraction retrouve son niveau d'origine ; à ce moment il est probable que le potentiel de plaque était encore loin de son amplitude initiale.

On pourrait encore invoquer les mouvements ioniques sous-jacents à la curarisation : mais nous ne pouvons à ce sujet fournir aucun argument.

Remarquons que ces phénomènes cumulatifs ne s'observent pas avec les acétylcholinomimétiques ; on noterait plutôt une diminution des effets par répétition de doses identiques.

2° ACTION DU β -DIÉTHYLAMINOÉTHYLDIPHÉNYLPROPYLACÉTATE OU S.K.F. 525 A :

C'est un produit récemment étudié pour ses propriétés « potentialisantes » vis-à-vis de médicaments appartenant à des groupes pharmaco-

dynamiques très divers (analgésiques, hypnotiques, dépresseurs et stimulants nerveux centraux, antiépileptiques) et entre autres des substances curarisantes. NAVIS, TONER et COOK [225] montrèrent les premiers cette action vis-à-vis de la *d*-tubocurarine ; D. BOVET et coll. [28] en firent une étude plus générale. Il faut tout d'abord remarquer que cette action s'exerce aussi bien sur les curarimimétiques que sur les acétylcholinomimétiques, fait semblant exclure toute intervention du SKF 525 A dans le mécanisme intime de la curarisation. D. BOVET rejette l'hypothèse précédemment émise d'une inhibition enzymatique protégeant les substances potentialisées de leur catabolisme normal. Il faudrait plutôt invoquer une « mobilisation » de molécules curarisantes intactes fixées sur des récepteurs aspécifiques qui rentreraient ainsi dans la circulation générale et atteindraient les plaques motrices.

Plusieurs résultats expérimentaux qui seront décrits ultérieurement semblent plaider en faveur d'une théorie semblable.

3° ANESTHÉSQUES GÉNÉRAUX :

Avec certains anesthésiques généraux, il a été remarqué que les doses habituelles de curarisants produisent une atonie musculaire plus profonde : avec l'éther, le fait est facilement explicable, par les propriétés curarisantes propres de cet anesthésique.

Plus récemment, un curarisant de synthèse (bromure d'hexafluorénium) a été décrit comme n'agissant que sur les malades anesthésiés. Sur l'animal, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'action fortement sensibilisante d'anesthésiques généraux, tels que les barbituriques, sur ce produit.

4° CARONAMIDE :

Enfin le caronamide, sulfamide utilisé comme « produit retard » dans l'antibiothérapie, exerce une action sensibilisante sur la curarisation (W. FERRARI [110], PACCA et VADILONGA [226] et CAVALLI [50]). Il semble difficile dans ce cas d'invoquer le ralentissement de l'excrétion rénale, mécanisme qui semble admis dans le cas de la pénicilline, car les curarisants sont en général éliminés très lentement dans l'urine (l'excrétion urinaire de la *d*-tubocurarine dure plus de 18 heures, MANFOUZ [208] et KALOW [169]). Ce problème sera étudié plus en détail dans un prochain chapitre (p. 139).

DEUXIEME PARTIE

MÉTHODES EXPÉRIMENTALES

METHODES EXPERIMENTALES

I. LES MONTAGES NERF-MUSCLE *in situ* (LAPIN, CHAT).

1° Choix des animaux.

2° Choix de l'excitation :

- a) le stimulateur,
- b) les électrodes,
- c) les paramètres :
 - α) Fréquence.
 - β) Durée.
 - γ) Voltage.

3° Choix de l'enregistrement.

4° Choix de l'anesthésique.

5° Description de la préparation.

- a) Chat.
- b) Lapin.

6° Avantages du montage neuromusculaire *in situ*.

7° Limites d'emploi du montage neuromusculaire *in situ*.

II. LES AUTRES TECHNIQUES UTILISÉES.

Nous avons fait appel pour notre travail à différentes méthodes utilisant l'idée directrice des mémorables expériences de Claude BERNARD, mais normalisées et susceptibles d'applications quantitatives.

Nos expériences sont surtout du domaine qualitatif : sens de l'activité, au besoin mécanisme, mode d'action, l'aspect quantitatif n'étant pour nous qu'accessoire. Aussi avons-nous principalement employé une technique nerf-muscle *in situ*, permettant un enregistrement graphique des contractions musculaires obtenues par excitation du nerf moteur. Dans quelques cas particuliers, nous nous sommes adressé aux méthodes générales décrites par le professeur CHEYMOL [59].

Nous étudierons donc avec détails la préparation nerf sciatique - muscles tibial antérieur-soléaire de Chat et la préparation nerf sciatique - muscle tibial antérieur de Lapin, ne donnant que les lignes générales des autres méthodes dont les détails techniques sont largement décrits dans l'article cité plus haut.

I. — LES MONTAGES NERF - MUSCLE *IN SITU*

Sciatique - tibial antérieur et soléaire du Chat.

Sciatique - tibial antérieur du Lapin.

1° CHOIX DES ANIMAUX.

Ce choix doit être guidé — en dehors des problèmes pratiques d'approvisionnement et de facilité de montage — par la qualité et la constance des réactions des animaux vis-à-vis des substances curarisantes. Le professeur J. CHEYMOL [76], en effet, dans une étude sur certains dérivés ammoniums quaternaires, insiste sur les différences de sensibilité qu'il a constatées suivant l'espèce animale : une même substance, au sein d'une série homologue, peut être classée dans un ordre d'activité différent suivant le test et l'animal utilisés.

Plusieurs auteurs ont analysé ce problème :

EVERETT [105] trouve que le Cobaye est plus sensible à la *d*-tubocurarine (*d*-TC) que le Rat, lui-même plus sensible que le Lapin.

RANDALL [245] compare la sensibilité de cinq espèces animales à la *d*-TC et au décaméthonium : il constate que le Chat est huit fois plus sensible au décaméthonium qu'à la *d*-TC et la Souris sept fois moins,

la sensibilité aux deux composés étant à peu près identique pour le Lapin et le Chien. Par contre, chez le Pigeon, les réactions sont d'un mécanisme différent.

Madame ZAIMIS [297-298] détermine l'activité relative de la *d*-TC et du décaméthonium chez neuf espèces animales. Pour la *d*-TC, elle obtient l'ordre de sensibilité décroissante suivant :

Rat > Lièvre > Singe > Souris > Lapin > Homme > Chien > Chat > Poule.

Pour le décaméthonium cet ordre est :

Poule > Chat > Homme > Chien > Lapin > Singe > Lièvre > Souris > Rat.

L'ordre n'est pas le même pour les deux types d'inhibiteurs de la transmission neuromusculaire ; en plus des différences quantitatives, il faut donc admettre des différences qualitatives suivant les espèces, certains animaux ne répondant pas de la même façon que d'autres à une même substance (cas du Lapin et du Chat vis-à-vis des acétylcholinomimétiques).

CHURCHILL-DAVIDSON et coll. [79] montrent que certains états pathologiques peuvent modifier les réponses d'une espèce animale aux agents curarisants.

BRAND [30] note chez le Rat des réactions au décaméthonium différentes de celles obtenues classiquement chez le Chat. L'auteur pense que ces réactions variables sont fonction aussi bien de l'espèce que du muscle considérés.

Enfin DALLEMAGNE et PHILIPPOT [89] font remarquer que des résultats obtenus chez un animal ne peuvent être extrapolés, tant du point de vue intensité de l'action, que du point de vue mécanisme, aux autres espèces. Les auteurs vont même plus loin en affirmant que cette extrapolation ne peut être faite d'un muscle à l'autre.

Nous avons, nous-même, retrouvé toutes ces divergences lors de notre expérimentation. La conclusion qui s'impose est donc une extrême prudence dans l'exposé des résultats ; ceux-ci doivent être vérifiés sur plusieurs espèces animales avant d'être généralisés et doivent toujours être accompagnés des conditions expérimentales dans lesquelles ils ont été obtenus.

Il nous fallait un animal dont les réactions soient les plus pures et les plus générales possibles ; nous avons utilisé le Chat.

Cet animal, en effet, répond généralement à de plus faibles doses de substances curarisantes que les autres espèces, et il est susceptible de répéter, qualitativement, ses réactions à toute substance, que celle-ci

appartienne au groupe des curarimimétiques ou au groupe des acétylcholinomimétiques.

Malheureusement, nous n'avons pas pu travailler uniquement sur le Chat à cause des difficultés d'approvisionnement et nous avons largement utilisé le Lapin dont les réactions sont moins constantes et la sensibilité, peut-être, moins bonne mais toutefois suffisante pour l'étude de substances curarisantes de type compétitif. Les enregistrements graphiques sont généralement moins stables avec le Lapin, car sa musculature n'a pas eu à beaucoup s'exercer dans le clapier. Au contraire, les muscles des Chats, surtout ceux de fourrière et de gouttières, sont fermes et bien exercés.

2° CHOIX DE L'EXCITATION (voir à ce sujet un article récemment paru de P. ROSSIGNOL [255]) :

Dans le problème de l'excitation, nous étudierons successivement le stimulateur, les électrodes et enfin les paramètres.

a) LE STIMULATEUR :

Il faut un appareil envoyant des stimulus uniques, isolés, répétés, absolument reproductibles et constants.

Nous avons utilisé lors de nos premières expériences un appareil donnant des décharges de condensateurs de capacité variable avec un éclateur : la tension de sortie est réglable par un potentiomètre, mais la tension varie également avec la fréquence ; de plus, la durée de passage n'est pas réglable et ne dépend que de la fréquence utilisée ; enfin le stimulus n'est pas rectangulaire et sa pente varie en fonction de la fréquence.

Comme au cours de nos expériences, nous avons toujours employé la même fréquence, seule la tension de sortie pouvait varier d'une expérience à l'autre. Nous pouvons donc admettre que l'excitation était reproductible.

Nous avons pu, par la suite, utiliser un stimulateur électronique à paramètres indépendants, produisant des impulsions rectangulaires. L'emploi de courants d'excitation rectangulaires est essentiel ; en effet, il est facilement reproductible d'un appareil à l'autre avec une extrême précision, ce qui n'est pas le cas des excitations à pente variable ; d'autre part, comme le rapporte KATZ [171], c'est l'excitant le plus efficace, car il élimine tous les phénomènes d'adaptation du nerf aux courants dont la tension s'établit graduellement. C'est un appareil construit par les Etablissements RACIA de Bordeaux, du type G L 2P, comportant quelques modifications particulières réalisées à notre demande. Ses caractéristiques sont les suivantes :

- Fréquence = gamme de l'excitation toutes les 15 secondes (4 par minute)
à 300 excitations par seconde.
- Durée = de 0,1 milliseconde
à 100 millisecondes.
- Voltage = de 0 à 10 volts
et de 0 à 100 volts.
- Bornes de sorties = positif, négatif, équilibré ou non par rapport à la terre.
- Possibilité d'envoyer une excitation tétanique, 50 excitations par seconde, en coupant le circuit normal d'excitation, puis retour automatique à ce circuit dès que l'excitation tétanique est interrompue.
- Un trèfle cathodique permet de vérifier l'envoi de chaque stimulus, tout au moins pour les faibles fréquences.

Ce neuro-excitateur a été conçu pour permettre l'excitation d'un sujet ou d'une préparation physiologique. Dans ce but, il délivre des impulsions rectangulaires dont les paramètres durée (largeur), amplitude (tension), et fréquence (nombre d'impulsions par seconde) sont réglables indépendamment les uns des autres. Les impulsions sont engendrées par un circuit multivibrateur monostable qui offre l'avantage d'avoir un seul état stable et un état pseudo-stable. Cette propriété permet d'obtenir des impulsions de très basse fréquence et de longue durée avec une grande stabilité. Un tel circuit multivibrateur nécessite, pour obtenir le basculement de l'état stable à l'état pseudo-stable, une excitation extérieure. Celle-ci est obtenue à partir d'un oscillateur de relaxation du type MILLER dont la fréquence est variable et qui permet d'obtenir des oscillations de très basse fréquence de l'ordre de 0,1 cycle par seconde.

Le neuro-excitateur se compose des circuits suivants :

- oscillateur à relaxation du type Miller,
- circuit multivibrateur monostable,
- circuit de sortie du type cathodyne,
- alimentation stabilisée.

L'appareil est complété par un sélecteur disposé sur le panneau avant qui permet de choisir différents modes de fonctionnement qui sont :

- a) Position « relaxé » : les impulsions se succèdent à la fréquence déterminée par l'oscillateur de relaxation.
- b) Position « salves » : les impulsions se succèdent à la fréquence choisie mais peuvent être remplacées par une stimulation tétanisante (50 cycles par seconde) par action sur le bouton poussoir commandé à distance.

- c) Position « top » : on n'obtient qu'une seule impulsion de largeur réglable commandée par un bouton poussoir.

b) LES ÉLECTRODES :

Nous avons essayé plusieurs types d'électrodes qui nous ont donné plus ou moins satisfaction.

Les électrodes Boulitte, de type courant en platine et corps en ébonite noir, ne nous ont pas donné de résultats satisfaisants, car du fait du rapprochement des deux fils de platine, l'électrode n'avait aucune stabilité ; de plus, l'encombrement et le poids la rendaient mal commode.

Nous avons essayé d'autres électrodes Boulitte dont les deux fils sont beaucoup plus espacés, la stabilité était meilleure, mais l'appareil était encore lourd.

Une électrode en plexiglas, d'origine anglaise, à fil d'argent et coulisse, permettait de maintenir le nerf ; l'appareil était léger et petit ; mais malheureusement les fils n'étaient pas recourbés et la surface de contact était trop réduite, surtout chez le Lapin où le sciatique est beaucoup plus fin que chez le Chat.

Nous avons fabriqué nous-mêmes des électrodes, facilement réalisables qui, par leur largeur, leur légèreté, leur souplesse, nous ont donné les meilleurs résultats : la distance entre les électrodes doit être de 5 à 6 mm, et le diamètre de chaque électrode inférieur à 0,5 mm (JULLIEN [166] ; KATZ [171]).

Deux fils d'argent de 0,5 mm de diamètre sont gainés au moyen de cathéter de polyvinyle de 0,5 mm de diamètre intérieur, et de 1 mm de diamètre extérieur. A une extrémité, la gaine est soudée. On dénude la gaine à environ 15 mm de l'extrémité soudée, sur la moitié de la circonférence et sur une longueur de 5 mm environ. Ces deux fils d'argent gainés sont maintenus à distance de 8 à 10 mm l'un de l'autre par deux plaques de plastique soudées électroniquement, entre les fils et sur leurs bords externes. La plaque de plastique supérieure est découpée à l'endroit où les fils sont à nu et on courbe le tout à ce même endroit, la partie dénudée étant à l'intérieur de la courbure. La souplesse de l'appareillage permet d'assurer un meilleur contact entre l'argent et le nerf. Sa largeur totale, d'environ 2 cm, assure une stabilité satisfaisante des électrodes.

Nous avons également utilisé une électrode unipolaire construite sur le même principe du fil d'argent gainé localement dénudé et stabilisé sur le nerf par les 2 plaques de plastique soudées. Une mèche métallique servant à la fixation de la patte est alors reliée à la terre du stimulateur.

Des électrodes en plexiglas et platine de très petite dimension, provenant d'Allemagne, ont été également utilisées avec profit.

Différentes observations doivent être faites :

- Il ne faut pas pincer trop fortement le nerf, car une excitation mécanique continue vient troubler la décharge électrique.
- On a intérêt à placer les électrodes sur le trajet du nerf, le plus près possible du muscle.
- Des excitations parasites, de fond, peuvent apparaître par la seule présence des électrodes sur le nerf ; il ne nous a pas été possible d'en trouver l'origine exacte : polarisation des électrodes, électricité statique ? Nous avons systématiquement éliminé pour cela toute grille ou plateau métallique en contact avec l'animal et nous avons vérifié toujours l'effet de l'inversion des pôles sur l'excitation.

c) LES PARAMÈTRES :

Le problème des paramètres ne se posait pas à nous lorsque nous utilisions le petit stimulateur à décharge, car le seul réglage possible, la fréquence étant fixée, était le voltage dont on ne connaissait pas la valeur absolue : on l'augmentait progressivement jusqu'à l'obtention de la contraction maximale et on dépassait un peu ce réglage pour obtenir un voltage supramaximal.

Lorsque nous avons utilisé un stimulateur électronique, il nous a fallu déterminer les paramètres les plus favorables.

Il s'agit de provoquer par stimulation du nerf moteur une contraction musculaire :

- maximale, c'est-à-dire mettant en jeu la totalité des fibres constituant le muscle,
- unique, c'est-à-dire qu'à un stimulus, chaque fibre réponde par une seule contraction,
- enfin, répétée à intervalles réguliers, sans qu'interviennent des phénomènes de fatigue, de sommation ou d'inhibition.

Pour cela, les paramètres d'excitation doivent être supra-maximaux, afin d'obtenir avec certitude la réponse maximale du muscle. Ils ne devront, toutefois, pas dépasser certaines limites au-delà desquelles la réponse musculaire ne serait plus unique.

Rappelons brièvement ce que sont ces paramètres, un schéma bien connu permet de fixer les idées (fig. 15).

Étudions donc maintenant chacun de ces paramètres.

a) *Fréquence.*

Dans le problème de la fréquence à employer, nous devons déterminer un juste équilibre entre deux facteurs apparemment opposés :

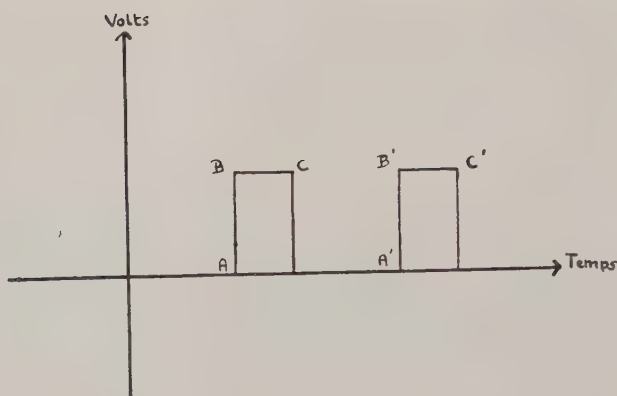


FIGURE 15.

AB = hauteur, voltage ou tension (en Volts).

BC = largeur ou durée du stimulus (en millisecondes).

AA' = période = T ; la fréquence $N = \frac{1}{T}$ (en cycles par seconde ou par minute).

— d'une part, plus la fréquence est basse, moins la préparation neuro-musculaire se fatigue et les réponses obtenues se rapprochent le plus des conditions physiologiques. On sait que la fatigue peut supprimer complètement la réponse musculaire à l'excitation nerveuse ;

— d'autre part, pour se rendre compte des réactions du muscle à l'excitation de son nerf moteur, il faut suivre la préparation en envoyant un stimulus électrique le plus souvent possible. Nous avons choisi arbitrairement une fréquence d'excitation très basse — éliminant évidemment toute réponse tétanique du muscle et même permettant aux divers mécanismes de la transmission musculaire de retrouver leur état initial dans l'intervalle séparant deux excitations successives.

Avec un intervalle de 10 secondes entre chaque stimulus sur le nerf moteur (6 excitations par minute), l'alternative posée au début du paragraphe, semble résolue de façon satisfaisante.

Nous avons pu de la sorte obtenir facilement sur le Chat et le plus souvent chez le Lapin, des tracés dont les hauteurs de contraction se maintiennent identiques à elles-mêmes pendant plusieurs heures, donc sans troubler le fonctionnement physiologique de la préparation neuro-musculaire.

Mais une autre question se pose : sur une telle préparation, curarisée, la fréquence d'excitation est-elle susceptible de modifier le degré de la paralysie ?

Différents auteurs ont étudié ce problème à propos de la détermina-

tion quantitative de substances curarisantes sur des préparations nerf-muscle stimulées de façons répétées.

BRISCOE G. [34] a montré de façon d'ailleurs purement qualitative que l'action du curare diminuait la rigidité du quadriceps de Chat décérébré, de façon d'autant plus grande que la stimulation était plus rapide.

T. C. CHOU [78], afin de mettre au point une méthode de dosage des substances ou préparations curarisantes par la technique nerf phrénique-diaphragme de Rat, a étudié de façon très précise l'influence de la fréquence de stimulation sur la profondeur de la curarisation ; il arrive à la conclusion que la curarisation augmente avec la fréquence pour une même dose de *d*-TC, l'effet produit par la *d*-TC est plus grand quand le muscle a travaillé. Il fait remarquer, d'autre part, que la puissance de la stimulation n'a pas d'influence sur la profondeur de l'action.

Ces observations ont été confirmées par GUYTON et REEDER [140] chez le Chien. Ces auteurs supposent que le curare ralentit le retour à la normale des mécanismes musculaires sensibles à la stimulation nerveuse au niveau de la jonction nerf-muscle.

D'autre part, PRESTON et VAN MAANEN [240], expérimentant sur le Rat, ont trouvé que l'augmentation de la fréquence (de 2/min. à 5/sec.) n'affectait ni le temps de retour à la normale, ni la pente de la courbe dose active/réponse, mais par contre conduisait à une diminution de la dose paralysante et du temps entre l'injection et l'effet maximum.

BOYD, BROSNAN et MAASKE [29] observent qu'un effet persiste encore 10 sec. après la stimulation, mais dans leurs expériences, celle-ci était tétanique, donc plus brutale.

Dans ces conditions, l'intervalle de 10 sec. entre chaque stimulation que nous avons choisi, n'est peut-être pas suffisant pour permettre à la préparation de récupérer les conditions de fonctionnement qu'elle avait au moment de l'excitation.

Une telle vérification sur une préparation neuromusculaire *in situ* est assez difficile, à moins d'enregistrer le potentiel de plaque et les courants d'action musculaires. Nous n'avons pas pu le faire et nous nous sommes tenus, dans toutes nos expériences, à la fréquence de 6 excitations par minute.

β) La durée ou largeur du stimulus électrique.

La fréquence étant choisie suffisamment faible pour éviter tout chevauchement d'une excitation sur la suivante, il nous reste à définir la largeur du stimulus — ou durée de l'excitation — et la hauteur du stimulus — ou voltage.

De la durée de l'excitation dépend l'unicité de la réponse du muscle et pour étudier l'influence des variations de la durée sur la réponse

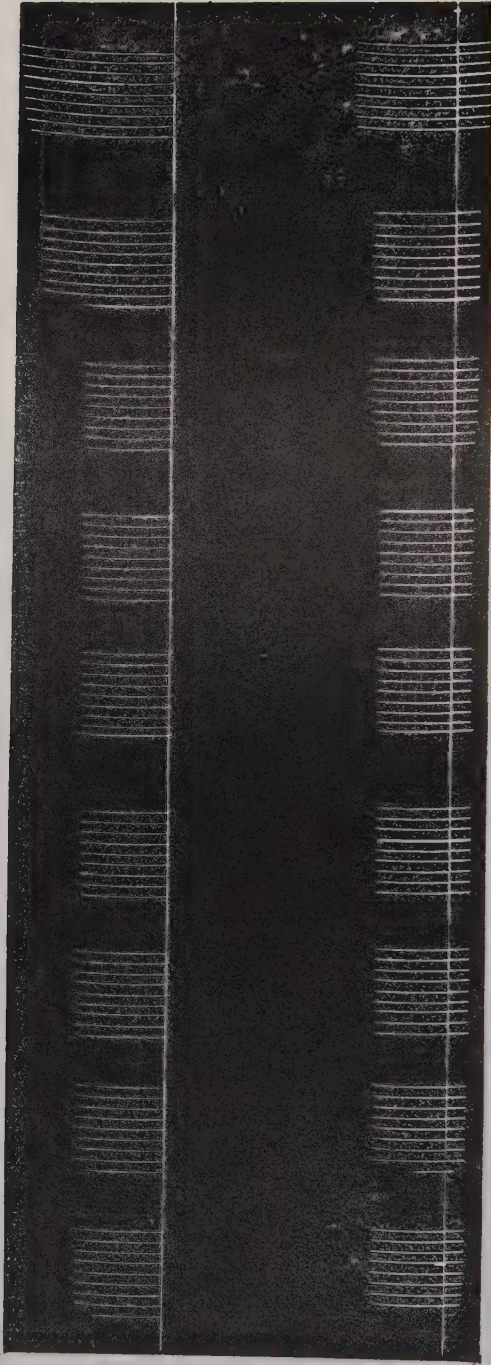


FIGURE 16.

*Réactions des muscles tibial antérieur (tracé supérieur) et soléaire (tracé inférieur)
de Chat aux variations de largeur du stimulus électrique appliqué sur le nerf sciatique.*

Dans chaque série de réponses musculaires, la largeur du stimulus unique est fixe alors que le voltage prend successivement les valeurs 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10 volts (Repos de 30 sec. entre chaque excitation).

1^{re} série : 0,05 milliseç.; 2^e série : 0,1 milliseç.; 3^e série : 0,4 milliseç.; 4^e série : 0,6 milliseç.; 5^e série : 0,8 milliseç.; 6^e série : 1 milliseç.; 7^e série : 2 milliseç.; 8^e série : 5 milliseç.; 9^e série : 10 milliseç.

(l'éché réduit aux 2/3)

musculaire, nous nous sommes inspiré d'un travail d'E. GJONE [127], sur ce même sujet, mais portant sur des muscles différents. Nos conclusions sont d'ailleurs assez voisines.

ETUDE EXPÉRIMENTALE :

L'animal est préparé selon la technique qui sera décrite en détail un peu plus loin. On fait alors varier la durée du stimulus de 0,1 msec. à 10 msec. et le voltage de 1 à 10 V.

— Pour chaque durée 0,1-0,2-0,5-1-2-5-10 msec. : on fait varier la tension de 1 à 10 V (1 - 2 - 3... 10 V) ;

— Pour chaque voltage (1-2-4-6-8-10 V) on fait varier la durée de 0,1 à 10 msec. : (0,1-0,2-0,5-1-2-5-10 msec).

Dans chaque cas, des intervalles de 30 sec. ou 1 min. séparaient un stimulus du suivant, permettant un retour complet du muscle à son état initial (des réponses *a priori* surprenantes aux fortes excitations ont été reproduites de façon absolument identiques en attendant 1,2 ou 5 minutes entre chacune).

Nous avons choisi parmi les tracés obtenus, le plus typique dans le cas du Chat (tibial antérieur et soléaire) et dans le cas du Lapin (tibial antérieur) (fig. 16, 17, 18 et 19).

Quelles conclusions tirer de ces expériences ?

TIBIAL ANTÉRIEUR DU CHAT. — On peut distinguer quatre domaines :

— pour des durées inférieures ou égales à 0,1 msec. : on observe généralement, surtout aux faibles voltages, des réponses inférieures à la réponse maximale du muscle. Dans ce domaine, la durée est trop courte pour mettre en jeu la totalité des fibres du muscle ;

— de 0,2 msec. à 1 ou 2 msec. : on observe des réponses maximales formant, quel que soit le voltage, un plateau stable. Ces 2 limites constituent le domaine expérimental conduisant avec certitude à une réponse unique et maximale ;

— de 1 ou 2 msec. à 5 msec. : les contractions sont quelquefois maximales pour les faibles voltages, mais leur hauteur augmente au-dessus du plateau maximal au fur et à mesure que croît le voltage. La durée de l'excitation, dépassant la période réfractaire de la plaque, il y a

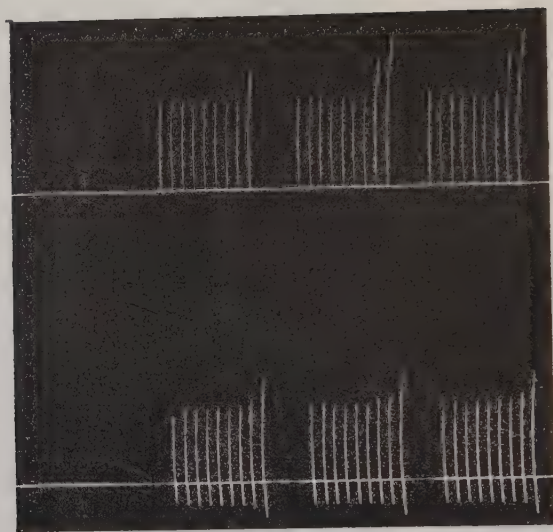


FIGURE 17.

Réactions des muscles tibial antérieur (tracé supérieur) et soléaire (tracé inférieur) de Chat aux variations de voltage du stimulus électrique appliqué sur le nerf sciatique.

Dans chaque série de réponses musculaires, le voltage du stimulus unique est fixe alors que la largeur prend successivement les valeurs : 0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,6 - 0,8 - 1 - 2 - 5 - 10 millisecc.

1^{re} série (une seule réponse du tibial pour 10 millisecc.) : 1 volt ; 2^e série : 2 volts ; 3^e série : 6 volts ; 4^e série : 10 volts.

(Cliché réduit aux 2/3)

sommutation des excitations de fermeture et d'ouverture du circuit et la réponse du muscle est plus grande que la hauteur maximale. Toutefois, celle-ci croît avec la durée, car la 2^e excitation n'est totalement efficace que pour des durées assez longues ;

— enfin, au-dessus de 5 ou 10 msec. : on observe des réponses nettement au-dessus du plateau maximal, mais qui augmentent quelquefois irrégulièrement quand croît le voltage.

D'après E. GJONE, pour les longues durées, un autre mécanisme en plus de la sommation, doit être mis en jeu pour que la réponse du muscle soit si grande : il y aurait, au niveau de la plaque motrice, une décharge électrique répétitive due à des variations d'excitabilité, sous l'influence du passage prolongé du courant. Dans la pratique, nous nous tenons dans les limites des courtes durées : 0,2 msec. à 1 msec.

SOLÉAIRE DU CHAT.

Les réponses sont tout à fait parallèles à celles du tibial quand varie la durée de l'excitation ; toutefois, pour les très courtes durées (inférieures ou égales à 0,1 msec.) le plateau maximal est atteint pour des voltages plus élevés que le tibial. La limite supérieure du domaine maximal est généralement plus faible avec le soléaire. Ainsi les contractions commencent à être sommées à 1 msec. chez le soléaire, alors que pour le tibial la limite est de 2 msec.

Dans la pratique, nous utilisons évidemment les mêmes durées que pour le tibial, c'est-à-dire entre 0,2 msec. et 1 msec. ; mais les limites sont toutefois un peu plus étroites que pour le tibial antérieur.

TIBIAL ANTÉRIEUR DU LAPIN.

Des excitations de durée variable ont conduit, chez le Lapin, à des réponses voisines de celles du Chat : on observe quatre domaines de réponses dont les explications semblent les mêmes que celles fournies précédemment. Toutefois, des différences importantes sont à noter.

— Si les expériences sur le Chat nous ont donné des résultats très voisins d'un animal à l'autre, il existe chez le Lapin des variations individuelles assez importantes, nécessitant, avant chaque expérience, une recherche rapide de la durée la plus favorable. En effet, les limites du domaine de la contraction maximale et unique sont chez certains animaux assez étroites ; elles s'étalent en moyenne de 0,1-0,2 à 1 msec., mais peuvent se réduire à 0,2 msec. ou 0,5 msec. chez certains animaux ; toute

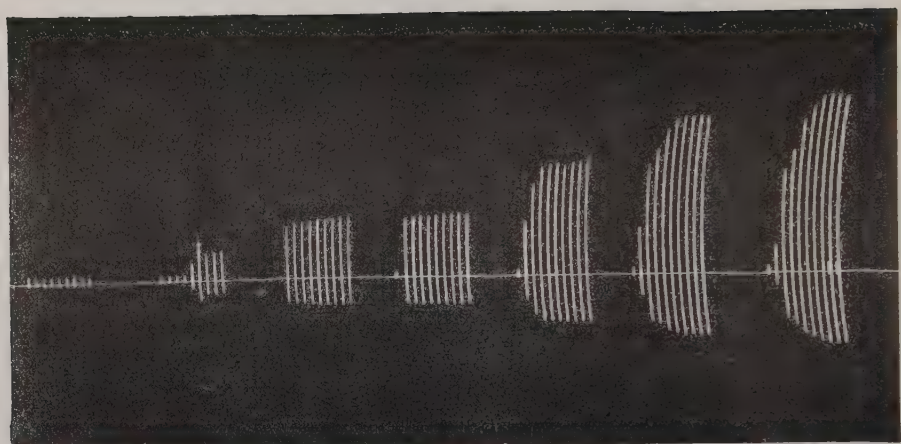


FIGURE 18.

Réactions du muscle tibial antérieur de Lapin aux variations de largeur du stimulus électrique appliqué sur le nerf sciatique.

Dans chaque série de réponses musculaires, la largeur du stimulus unique est fixe alors que le voltage prend successivement les valeurs 1 - 2 - 3 - 4 - 5 - 6 - 7 - 8 - 9 - 10 volts (Repos de 30 sec. entre chaque excitation).

1^{re} série : 0,1 millisecc. ; 2^e série : 0,2 millisecc. ; 3^e série : 0,5 millisecc. ; 4^e série : 1 millisecc. ; 5^e série : 2 millisecc. ; 6^e série : 5 millisecc. ; 7^e série : 10 millisecc.

(Cliché réduit aux 2/3)

durée inférieure conduisant à une réponse sous-maximale, et toute durée supérieure, à une réponse supramaximale.

— Les réponses du muscle à une excitation convenable du nerf sont quelquefois irrégulières, fournissant ainsi des tracés moins stables. Ce phénomène est peut-être dû à des variations, au cours de l'expérience, de la vitesse de conduction nerveuse — observées par E. GJONE — chez le Lapin.

Dans la pratique, nous utilisons 0,2 - 0,5 msec. et plus rarement 1 msec.

γ) Le voltage.

La fréquence étant fixée une fois pour toutes, la durée favorable rapidement déterminée, il nous a fallu pour chaque expérience déterminer le voltage donnant la réponse maximale et unique, et augmenter ce voltage pour être sûr de se trouver toujours à un voltage supramaximal. Toutefois, des expériences ont été pratiquées en même temps que celles sur la durée, afin de définir pour chaque muscle le domaine de voltage le plus convenable.

(Fig. 16, 17, 18 et 19).

TIBIAL ANTÉRIEUR DU CHAT.

La préparation sciatique-tibial antérieur du Chat est particulièrement peu sensible aux variations de voltage, à condition que la durée pendant laquelle doit passer le stimulus, ait été convenablement choisie.

Au-delà d'un voltage subliminaire qui varie suivant les animaux entre 1 et 2 V, quelquefois moins, on obtient la réponse maximale et unique recherchée. En effet, dans le tracé présenté dans la fig. 17, on observe un plateau stable, pour les durées de 0,2 à 2 msec., de 2 V à 10 V.

Dès que la durée du stimulus conduit à des réponses sommées ou répétitives, la réponse du muscle dépend beaucoup plus du voltage du stimulus ; on observe ainsi généralement une augmentation de la hauteur de contraction musculaire directement fonction du voltage. Nous avons observé pour les plus longues durées des phénomènes d'inhibition avec les voltages élevés ; ainsi pour 10 msec. la hauteur est quelquefois plus faible avec 10 V qu'avec 6 volts ; nous n'avons pas pu fournir à ce phénomène d'explications satisfaisantes.

Dans la pratique, pour une durée d'excitation convenable bien définie, il s'agit donc de maintenir la préparation au-delà du voltage seuil, mais sans toutefois soumettre la préparation à une excitation trop forte susceptible au cours d'expériences durant plusieurs heures, de provoquer des

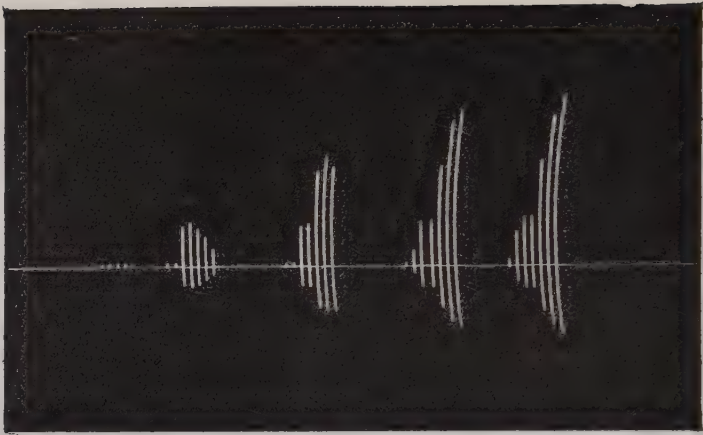


FIGURE 19.

Réactions du muscle tibial antérieur de Lapin aux variations de voltage du stimulus électrique appliqué sur le nerf sciatique.

Dans chaque série de réponses musculaires, le voltage du stimulus unique est fixe alors que la largeur prend successivement les valeurs : 0,1 - 0,2 - 0,5 - 1 - 2 - 5 et 10 milliseç. (Repos de 30 sec. entre chaque excitation).

1^{re} série : 1 volt ; 2^e série : 2 volts ; 3^e série : 4 volts ; 4^e série : 6 volts ; 5^e série : 10 volts.

(Cliché réduit aux 2/3)

troubles difficilement réversibles. Nous cherchons donc d'abord le voltage seuil, qui varie suivant les cas de 1 à 2 volts et doublons le chiffre obtenu : la plupart de nos expériences ont été pratiquées en utilisant un voltage de 2,5 V à 4 V.

SOLÉAIRE DU CHAT.

Les observations faites sur le tibial se retrouvent à peu près identiques avec la préparation de soléaire.

Toutefois, le voltage seuil est toujours plus élevé que celui du tibial.

D'autre part, pour les longues durées, on n'observe pas les grandes réponses obtenues avec le tibial pour les voltages élevés ni évidemment les phénomènes d'inhibition dont elles font quelquefois l'objet.

Pratiquement, nous nous tenons dans les mêmes zones de voltage que pour le tibial, mais il faut quelquefois se tenir dans les limites supérieures, 3,5 à 4 V, pour obtenir un tracé de soléaire régulier.

TIBIAL ANTÉRIEUR DU LAPIN.

Comme chez le Chat, la marge de voltage est assez grande si la durée d'excitation a été convenablement choisie : toutefois, il faut remarquer des variations d'excitabilité selon les individus. En effet, chez certains animaux le voltage seuil est supérieur à 3 volts ; en général, il se situe aux environs de 2 volts.

Comme chez le Chat, pour des durées supramaximales, la hauteur de la réponse musculaire est directement fonction du voltage et pour les longues durées et voltages élevés, on observe ces grandes réponses à caractère tétanique, avec quelquefois des phénomènes d'inhibition pour les plus hauts voltages.

Pratiquement, nous utilisons un voltage double du voltage liminaire se situant entre 4 et 6 volts.

3° CHOIX DE L'ENREGISTREMENT.

Une contraction musculaire peut être enregistrée selon deux principes différents : a) l'enregistrement isotonique (fig. 20), dans lequel le muscle travaille sous une résistance constante et se raccourcit librement ; on constate sur un myogramme isotonique une certaine inertie tendant à étaler la courbe réelle de contraction ; ce phénomène est dû à l'élasticité propre du muscle ;

b) l'enregistrement isométrique (fig. 20) ne conduit au contraire qu'à une variation infinitésimale de la longueur du muscle et enregistre la tension exercée par le muscle. Ce myogramme isométrique fournit une réponse plus brusque : la contraction démarre à la verticale et la décontraction débute aussi rapidement.

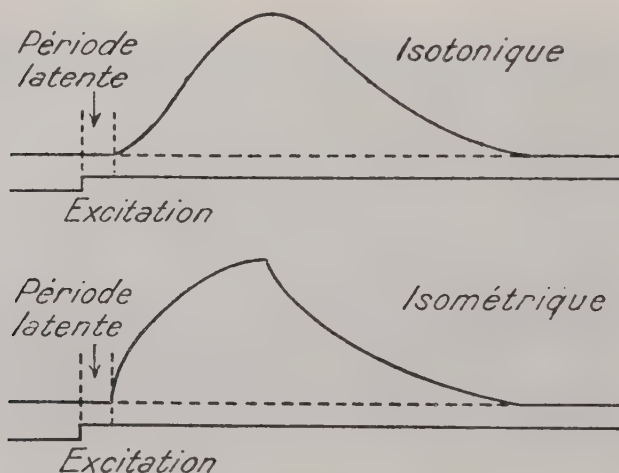


FIGURE 20.

Enregistrements isotonique et isométrique de la contraction musculaire.
(Ext. de GLEY [130]).

L'enregistrement isométrique est donc plus fidèle au véritable phénomène de la contraction musculaire.

Toutefois, étant donné, que nous ne nous intéressons qu'à la hauteur de la secousse, résumant le phénomène global sans tenir compte des phénomènes partiels constitutifs, nous pouvons utiliser dans une étude pharmacodynamique l'un ou l'autre des enregistrements.

Nous avons principalement utilisé un appareillage conduisant à un enregistrement isotonique du muscle : la résistance constante étant réalisée par la membrane de caoutchouc d'un tambour de MAREY.

L'existence d'une transmission pneumatique est certes très avantageuse d'un point de vue pratique, car :

1° l'animal est placé sur un support de contention horizontal et dans une position de sommeil très physiologique n'ayant pas à amener la patte à la verticale du style inscripteur ;

2° les réglages de la hauteur des contractions sont très faciles.

Toutefois, l'utilisation de l'air pour la transmission amène un amortissement du tracé dû à la compressibilité. Nous avons pu observer occasionnellement ce fait en utilisant un appareil d'enregistrement isométrique à transmission pneumatique : les contractions n'ont pas l'allure d'une contraction isométrique classique, mais bien l'allure de la contraction isotonique amortie, avec même une oscillation supplémentaire due à l'élasticité du système transmetteur. Ces observations ont été faites pour vérifier si les réactions musculaires étaient pharmacodynamiquement les mêmes, quel que soit le mode d'enregistrement. Nous avons pu constater une identité absolue des réactions.

Description de l'appareil à contention et du myographe (fig. 21) :

Sur une planche épaisse à contention (a), de 85×30 cm, est solidement fixée dans un des angles une tige métallique rigide (b) de 20 cm

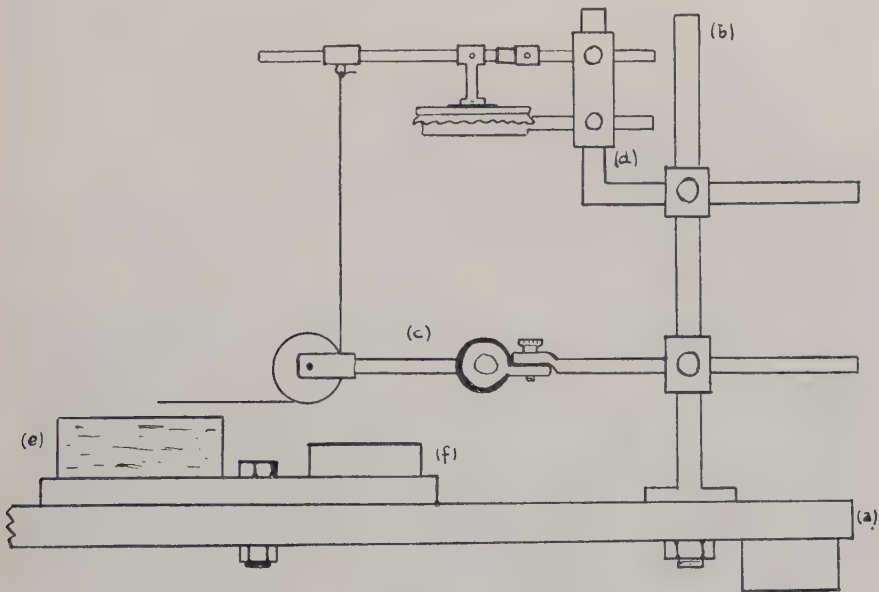


FIGURE 21.

Schéma de l'appareil à contention et du myographe.

de hauteur. Celle-ci est destinée à maintenir en place au moyen de noix métalliques une ou deux poulies montées sur tige à double articulation perpendiculaire (c) et un support à tambours manipulateurs (d) reliés à

des tamboûrs inscripteurs (non figurés sur le schéma). Une planchette comportant un bouchon de liège (e) et un bouchon de caoutchouc (f) de moindre épaisseur muni d'un double lien, est adaptée sur la planche à contention du même côté que la tige métallique et à une dizaine de cm de celle-ci ; ce dernier dispositif servira à l'immobilisation absolue de la patte de l'animal.

4° CHOIX DE L'ANESTHESIQUE.

Il faut utiliser un anesthésique qui n'interfère pas, ou le moins possible, avec les mécanismes neuromusculaires.

Ce problème est délicat, car la plupart des anesthésiques généraux connus ont une action sur la contraction musculaire ou sur la curarisation. Il a été beaucoup étudié chez l'Homme, étant donné l'emploi généralisé du curare en anesthésiologie (E. KERN [173]).

Des expériences sur les animaux de Laboratoire rapportées dans la littérature, ainsi que des études personnelles, nous ont permis de préciser les incidences de l'anesthésique.

a) ANESTHÉSQUES VOLATILS :

L'éther possède des effets curariformes (AUER et MELTZER [10] ; GROSS et CULLEN [135]) sans que le nerf moteur ne soit touché (FORBES et coll. [120]). Cette action se transmet par voie humorale (SIMONART et SIMONART [266] ; GROSS et CULLEN [135]).

G. L. BROWN [39], PATON et ZAIMIS [231] conseillent d'éviter la pré narcose à l'éther dans toute expérimentation sur la transmission neuromusculaire.

W. SCHALLEK [259], K. NAESS [222-223-224] et O. SECHER [260-261-262-263], dans une série de publications sur l'action périphérique de l'éther (préparation phrénique-diaphragme isolés de Rat), arrivent à des conclusions assez voisines mais plus précises :

— l'éther a une action curariforme ;

— l'éther agit dans la transmission neuromusculaire sur chacune des trois parties de la jonction dans l'ordre préférentiel suivant : plaque motrice — nerf périphérique — cellule musculaire, mais dans l'anesthésie par l'éther, seule la plaque est touchée ;

— il existe une synergie entre l'éther et les agents curarisants (curarimimétique ou acétylcholinomimétique), mais c'est une simple addition et non une potentialisation.

Parmi les autres anesthésiques généraux gazeux ou volatils :

— le chloroforme n'influence pas la contraction musculaire (GITHENS et MELTZER [125], mais il est très toxique pour le Chat et le Lapin ;

— le cyclopropane et l'éthylène influencent moins la contraction musculaire que l'éther (GROSS et CULLEN [135]).

b) ETHYLURÉTHANNE OU CARBAMATE D'ÉTHYLE :

L'uréthane (0,50 g/kg I.V.) sur une contraction musculaire normale obtenue par excitation électrique directe ou indirecte du muscle, provoque une potentialisation faible mais nette qui dure de 15 à 30 minutes.

L'uréthane exerce une potentialisation très nette des effets de la *d*-TC, même quand le curarisant est injecté deux heures après l'anesthésique (Lapin décérébré).

Après curarisation, l'éthyluréthane provoque un arrêt prolongé du retour spontané des contractions ; dans un cas, il a même entraîné la mort de l'animal (Lapin décérébré).

c) CHLORALOSE :

Sur la contraction directe et indirecte du Lapin décérébré, le chloralose entraîne une légère potentialisation : cette augmentation d'amplitude est très faible et de courte durée : aux doses de 100 et 200 mg/kg.

Sur la curarisation, le chloralose aux doses anesthésiques utilisées est pratiquement sans action.

d) BARBITURIQUES :

Le problème sera évoqué à propos des thiobarbituriques chap. IV, 3^e Partie.

Nous avons essayé pour notre préparation le Somnifène* (1), mais nous avons dû l'abandonner après avoir observé ses effets sur la curarisation.

En effet, le Somnifène* aux doses anesthésiques habituelles, 0,5 ml/kg, potentialise fortement l'action curarisante de la *d*-TC, qu'il soit administré avant ou après celle-ci.

Nous avons également cherché si le Mébubarbital (2) exerçait une action sur la contraction musculaire et sur la curarisation.

Sur la contraction normale, le mébubarbital (aux doses anesthésiques 15 à 18 mg/kg) exerce une faible potentialisation, alors que sur la contraction d'un muscle partiellement curarisé par la *d*-TC, on observe une potentialisation entraînant une faible curarisation supplémen-

(1) Mélange de diéthylmalonylurée et allylisopropylmalonylurée.

(2) Pentobarbital ou Nembutal*.

taire : cette action synergique a été déjà montré sur l'animal entier (Chat) par PICKS et RICHARDS [238] et sur des préparations nerf-muscle *in situ* (Chat, Chien) par KRAATZ, GLUCKMANN et SHIELDS [183], alors que ces mêmes auteurs concluent avec le test de la chute de la tête (sur le Lapin entier) à une action protectrice du mébubarbital vis-à-vis de l'action atonisante de la *d*-TC.

L'action semblant complexe et controversée, nous nous sommes tenus à nos propres résultats : les doses anesthésiques habituelles n'ont qu'une très faible action.

CONCLUSIONS PRATIQUES :

α) Anesthésiques généraux gazeux volatils : le CHCl_3 , le cyclopropane et l'éthylène influencent beaucoup moins la jonction myoneurale que l'éther mais présentent le grave inconvénient d'être toxiques pour le Chat et le Lapin. Nous avons donc employé pour nos décérébrations le minimum d'éther, en attendant un temps suffisamment long après la décérébration (1 heure) pour commencer l'expérience. Dans ces conditions, malgré la lenteur d'élimination de l'éther, le maximum de la faible dose administrée doit être éliminé.

β) Anesthésiques généraux par voie parentérale :

Chat. — Nous avons utilisé le mélange chloralose-mébubarbital par voie intraveineuse. L'action rapide du mébubarbital permet de compenser l'action lente du chloralose, mais ce dernier ayant une action très prolongée, il est possible d'utiliser la préparation pendant plusieurs heures (jusqu'à 7 à 8 heures).

Les doses utilisées sont les suivantes :

- Chloralose = 80 mg/kg en solution tiède à 1 p. 100 dans le soluté physiologique ;
- Mébubarbital = 15 à 18 mg/kg suivant l'état de l'animal (Nembutal * Vétérinaire à 65 mg/ml, soit environ 0,25 ml/kg ajouté dans la seringue juste avant l'injection) administré par voie intraveineuse ou, chez les animaux particulièrement méchants, par voie intrapéritonéale.

Lapin. — Nous avons employé pour le Lapin la même association chloralose-mébubarbital, malgré l'anesthésie moins immédiate et moins inoffensive qu'elle provoque chez cet animal. En effet, nous avons observé dans quelques cas une action dépressive respiratoire pouvant conduire à une mort rapide de l'animal si la respiration artificielle n'était pas instituée dans les dix minutes suivant l'injection. (L1 et coll. [203] signalent une action dépressive respiratoire du chloralose chez le Chien).

Néanmoins, comme nous plaçons d'office tous nos animaux sous respiration artificielle, cet inconvénient est mineur par rapport aux avantages d'action prolongée et de faible incidence sur la contraction musculaire et la curarisation que nous avons observées par ailleurs.

Les doses utilisées sont les suivantes :

- Chloralose = 100 mg/kg en solution tiède à 1 p. 100 dans le soluté physiologique ;
- Mébubarbital = 15 à 18 mg/kg suivant l'état de l'animal (environ 0,25 ml/kg ajouté dans la seringue juste avant l'injection).

Cette association n'a présenté sur un animal décérébré qu'une très faible action sur la contraction et sur la curarisation.

5° DESCRIPTION DE LA PREPARATION.

a) CHAT.

α) Anesthésie.

Un animal jeune de préférence (1 an et demi à 2 ans), d'environ 3 kg, est anesthésié. Pour cela une solution tiède de chloralose à environ 1 p. 100 (80 mg/kg) additionnée de mébubarbital 15 mg/kg (à peu près 0,25 ml/kg de la solution commerciale à usage vétérinaire) est injectée dans la veine saphène interne du Chat en proscrivant toute préanarcose à l'éther (seringue de 30 ml à embout excentrique. Aiguille 8/10 biseau court). L'animal s'endort instantanément. Pour les animaux particulièrement difficiles à manipuler, on peut pratiquer la même anesthésie par voie intrapéritonéale, mais l'animal ne s'endort qu'au bout de 15 à 20 minutes et peut se débattre, ce qui ne présente que des inconvénients ; cette anesthésie intrapéritonéale doit donc être généralement évitée.

On obtient une anesthésie sans phase primitive d'excitation et pouvant durer de 7 à 8 heures.

On établit la respiration artificielle et place une canule dans la veine jugulaire externe.

β) Décérébration.

Dans certains cas — par exemple dans l'étude des substances anesthésiques — il est intéressant d'utiliser des animaux décérébrés. Plusieurs techniques opératoires ont déjà été proposées : on peut pratiquer la section soit au niveau du mésencéphale (J. GAUTRELET [122]), soit au niveau du bulbe (animal spinal) : Technique de SHERRINGTON [265], décrite par J. GAUTRELET. C'est cette dernière technique légèrement simplifiée, très facilement et très rapidement réalisable, que nous avons utilisée. Elle est pratiquée sous anesthésie légère à l'éther. On aura soin

de laisser l'animal décérébré une heure avant de commencer l'expérience pour permettre au maximum d'éther de s'éliminer. On établit la respiration artificielle, ligature les 2 carotides primitives et rase la partie occipitale du crâne, ouvre la peau sur quelques centimètres longitudinalement et met à jour la partie dorsale des premières vertèbres (1). On sectionne alors la moelle entre l'os occipital et l'atlas après avoir soigneusement dégagé les apophyses transverses de l'atlas. On luxé l'articulation atlanto-occipitale et introduit dans la boîte crânienne, après destruction des centres nerveux, des lamelles d'éponges coagulantes (2), puis un petit bouchon de liège qui obture le trou occipital ; l'hémorragie, en opérant avec quelques précautions, est tout à fait minime.

On place une canule dans la jugulaire externe.

γ) Canule artérielle.

Nous avons été amené pour obtenir une action plus rapide, plus localisée ou pour diminuer les doses de curarisants ou de modificateurs éventuels de la curarisation, à administrer ceux-ci par la voie artérielle. Nous avons utilisé pour cela la mise en place, soit d'une canule dans l'artère rénale, soit d'un cathéter dans l'artère iliaque externe (technique selon BÜLBRING et BURNS [44]).

Cette dernière technique consiste à placer un cathéter en polythène à contre-courant dans l'artère iliaque externe (droite quand on utilise la patte gauche) de manière à ne pas modifier la circulation dans la patte utilisée.

Après laparotomie médiane du dernier tiers de l'abdomen, on vide et récline la vessie. On isole la partie terminale de l'aorte constituée par trois branches : les iliaques externes droite et gauche et l'artère sacrée moyenne. Sur l'iliaque externe droite dégagée sur environ 3 cm, on prépare trois ligatures, une est liée à la partie périphérique, les deux autres sont laissées lâches près de l'aorte. On ligature toutes les collatérales et l'artère sacrée moyenne. Un cathéter de 1 - 1,5 mm muni d'un embout serreur est passé au travers de la peau et de la paroi abdominale. En tirant une des ligatures libres placées sur l'iliaque externe droite pour arrêter toute circulation, on incise ce vaisseau et y place le cathéter préa-

(1) On peut, chez le Chat, faire dans les tissus musculaires qui seront sectionnés, des injections locales d'Adrénaline 10—5 supprimant ainsi toute hémorragie. Cette précaution n'est pas indispensable.

(2) L'emploi de « Spongel » est absolument indispensable : nous avons — chez le Lapin — suivi à la lettre la technique décrite par SHERRINGTON — et jamais nous n'avons pu avoir de préparations neuromusculaires stables = au bout d'un temps variable (20 minutes à 1 heure), les contractions musculaires diminuaient progressivement d'amplitude jusqu'à leur arrêt complet. Seul l'emploi de SPONGEL nous a permis d'obtenir un montage stable. Est-ce la petite hémorragie qui se produisait toujours sans SPONGEL, ou bien la mise en circulation d'une substance cérébrale d'origine lésionnelle ? Nous comptons ultérieurement éclaircir ce problème.

blement rempli de soluté physiologique ; on le maintient par deux ligatures. On ferme les deux plans de la plaie ⁽¹⁾.

Le volume total d'une injection ne devra pas dépasser 0,5 à 0,7 ml.

δ) *Préparation du sciatique.*

On rase alors la partie postérieure de la cuisse gauche (nous avons choisi arbitrairement la patte gauche pour toutes nos expériences), sectionne la peau sur la partie médiane du creux poplité jusqu'aux muscles fessiers. On sépare les masses musculaires des muscles biceps fémoral et demi-tendineux et atteint le nerf sciatique que l'on isole délicatement sur toute la longueur de la cuisse, jusqu'à sa séparation en plusieurs branches et son insertion dans les masses musculaires de la jambe. On place une ligature très serrée le plus haut possible sur le nerf afin de respecter les vaisseaux nourriciers et permettre ainsi une bonne irrigation de la partie utilisée. On humecte largement le nerf au moyen de soluté physiologique et le laisse au repos au milieu des muscles cruraux jusqu'à la mise en place de l'électrode à la fin de la préparation.

Il est préférable de commencer par la dissection du nerf sciatique, car celle-ci, et surtout la ligature, conduisent à une excitation intense du tissu nerveux. Pendant le temps nécessaire à la préparation, celui-ci pourra revenir à son état normal.

ε) *Fixation de la patte.*

Il est indispensable que la fixation de la patte soit bien réalisée, pour obtenir des tracés très réguliers. Celle-ci est assurée d'une part au niveau de l'articulation du genou, d'autre part, au niveau du jarret.

On rase la partie latérale externe du genou et sectionne la peau sur 2 à 3 cm de façon à mettre à vif la partie externe de la région condylienne du fémur. Une marque à la vrille est faite un peu en avant du condyle externe ; à l'aide d'une chignole ou d'un vilbrequin, on fait traverser une mèche de 3,5 mm de part en part des condyles. La mèche sera fixée à l'appareillage après isolement et séparation des muscles.

ζ) *Préparation du tibial antérieur.*

« C'est le plus volumineux des muscles de la région antérieure : il est situé au plan superficiel en avant et en dedans de l'extenseur commun des doigts et forme le bord antérieur de la jambe. Il s'insère en haut sur le condyle externe du fémur et la surface externe de la crête tibiale. Son corps charnu aplati dans sa partie supérieure est tourné d'abord en dehors puis en avant ; il vient au contact du groupe des péroniers. Vers

(1) Pour le Lapin : la partie terminale de l'aorte ne comprend que les deux iliaques externes ; le mode opératoire est identique, il faut utiliser du cathéter polythène de 0,5 - 1 mm.

le quart inférieur de la région, il se continue en tendon arrondi qui se dirige en dedans, s'engage sous la bride tibio-tarsienne du pli du jarret pour gagner le métatarsien du doigt II. Ce muscle est particulièrement large chez le Chat. » (J. BOURDELLE et BRESSOU [25]).

On rase la partie antérieure de la jambe jusqu'au jarret et la partie latérale interne du métatarse. On isole le tendon sur 2 cm après son insertion osseuse métatarsienne en liant ou évitant de toucher un petit vaisseau qui coiffe le tendon à sa partie terminale. On peut détacher une esquille d'os en libérant le tendon mais une simple section au ras de l'insertion osseuse suffit.

On isole le muscle lui-même après section de la peau sur la partie antérieure de la jambe. On fait glisser le tendon sous la bride tibio-tarsienne, afin de le libérer totalement, on le lie solidement avec un gros fil de longueur suffisante (20 cm environ). On lie et sectionne les premiers vaisseaux qui se trouvent à la partie interne du muscle. Une fois le muscle isolé sur sa plus grande partie, on l'humecte de liquide physiologique et recoud la plaie de manière à ne laisser en contact avec l'air que le tendon et la plus petite partie du corps musculaire, sans toutefois gêner sa contraction.

η) Préparation du soléaire.

« C'est un muscle du mollet, relativement volumineux, situé au côté externe des jumeaux. Corps charnu aplati, inséré sur la tête du péroné et sur la face postérieure du muscle fléchisseur externe des phalanges sous-jacent. Il s'engage sur le jumeau externe et se continue par un tendon long et arrondi que l'on peut suivre accolé au côté externe du tendon d'Achille jusqu'au niveau du calcanéum où il se termine » [25].

Après avoir rasé la partie postérieure de la jambe, on sectionne la peau depuis le calcanéum jusqu'au creux poplité. On libère le tendon d'Achille de ses aponévroses et dissèque au milieu de celui-ci le fin tendon du soléaire qui se trouve encastré à l'intérieur et du côté externe des autres tendons. On reconnaît généralement le muscle soléaire par sa couleur rose foncée contrastant avec celle rose pâle de la masse musculaire environnante. On place alors 3 ligatures :

— une première comprenant tout le tendon d'Achille au ras du calcanéum ;

— une deuxième constituée d'un long chef (20 cm) et comprenant tout le tendon d'Achille à 1 cm environ de la précédente ;

— enfin, une troisième à 1 cm plus loin comprenant le tendon d'Achille sans celui du soléaire.

Après deux sections pratiquées entre ces trois ligatures, il reste un morceau de 1 cm de tendon d'Achille sur lequel est attaché un long fil

contenant le tendon du soléaire qui n'a pas été sectionné ; celui-ci est ainsi solidement relié au fil (si on isole et ligature le tendon du soléaire seul, on risque d'avoir une fixation défectueuse).

On dissèque alors délicatement le muscle soléaire, en le libérant de ses adhérences avec les muscles et tissus voisins. On recoud grossièrement la peau pour éviter la dessiccation de la préparation.

θ) *Fixation de la patte — des muscles. — Mise en place de l'électrode.*

On place la patte sur les deux bouchons et enfonce la mèche transperçant les condyles du fémur dans le gros bouchon de liège. On serre le lien au niveau du jarret.

Les fils de chaque muscle sont alors reliés par l'intermédiaire des poulies articulées à chacun des tambours de Marey, en vérifiant que le muscle travaille dans la direction la plus proche de ses conditions physiologiques.

On fixe l'électrode sur le sciatique, le pôle négatif se trouvant vers la périphérie, c'est-à-dire vers le muscle et le pôle positif vers les centres.

L'électrode est placée le plus près possible du muscle.

Le stimulateur est branché et on attend une demi-heure à une heure que les hauteurs de contraction se stabilisent.

Dans le cas où de faibles contractions supplémentaires apparaissent entre chaque réponse isolée, il suffit pour les supprimer de laisser la préparation pendant une heure avec une excitation plus faible correspondant environ à 50 p. cent de la supramaximale (BROWN et Von EULER [40]).

Nous avons été amené quelquefois à sectionner le sciatique.

b) LAPIN.

Un Lapin jeune, de 2,500 kg environ, est anesthésié par injection dans la veine marginale de l'oreille par le mélange chloralose (100 mg/kg) mébubarbital (15 mg/kg). On peut également procéder à la décérébration comme il est indiqué pour le Chat, celle-ci se faisant d'ailleurs plus facilement et avec moins de risques d'hémorragies.

Il importe de mettre rapidement en œuvre la respiration artificielle, car le mélange anesthésique exerce une action dépressive nette sur la respiration.

L'isolement du sciatique s'effectue comme chez le Chat ; le lieu d'incision est toutefois plus difficile à repérer ; il suffit de sectionner les aponévroses le long de la veine saphène sans prêter trop d'attention aux petites hémorragies des collatérales qui s'arrêtent spontanément.

On ne prépare sur cet animal que le tibial antérieur dont la disposi-

tion anatomique est identique à celle du Chat : le tendon est simplement plus plat et plus allongé.

Les réponses contractiles sont généralement moins régulières que chez le Chat et il importe pour pallier à cet inconvénient de placer l'électrode le plus près possible des muscles. Il est absolument inutile d'isoler la fibre antérieure du sciatique pour limiter l'excitation aux seuls muscles antérieurs, la fibre antérieure est facile à séparer, mais les résultats ne sont pas meilleurs et on risque ainsi de léser le nerf inutilement.

Dans quelques expériences, le muscle a été stimulé par voie directe : pour cela, un mince fil d'argent — servant de cathode — est piqué dans le tendon du muscle, l'anode pouvant être placée indifféremment sur l'animal (par exemple sur la broche qui fixe les condyles fémoraux).

On a pu, comme chez le Chat, placer une canule dans l'artère rénale ou l'artère iliaque externe, afin d'obtenir une action plus rapide, plus localisée et à plus faible dose.

6° AVANTAGES DU MONTAGE NEUROMUSCULAIRE IN SITU.

a) ANIMAL ENTIER :

— Cette technique expérimentale présente l'avantage d'utiliser l'animal entier. Ainsi le ou les muscles dont les réactions sont étudiées, fonctionnent dans des conditions d'irrigation, d'innervation, d'insertion, pratiquement identiques à celles qu'ils ont physiologiquement.

b) SPÉCIFICITÉ DE L'ACTION A LA JONCTION MYONEURALE :

— L'action d'une substance est limitée à ses effets périphériques, à l'exclusion de toute action nerveuse centrale, qui ne peut se manifester sur la préparation que par la voie humorale. On obtient ainsi une action neuromusculaire spécifique ; par exemple, si on administre par perfusion intraveineuse lente à un lapin éveillé un anesthésique général, on obtiendra une chute de la tête de ce lapin sans pour cela que la substance soit curarisante. Par la technique nerf-muscle *in situ* une telle action sur la transmission neuromusculaire ne sera mise en évidence que pour des substances localisant leurs effets aux terminaisons nerveuses motrices à la plaque motrice ou à la fibre musculaire.

— Il est possible de montrer soit un effet curarisant, soit une potentialisation de la contraction maximale. De plus, l'emploi d'animaux décérébrés, donc sans anesthésie, permet d'étudier l'influence des anesthésiques sur la curarisation, problème important non seulement pour notre étude, mais aussi lors de l'emploi thérapeutique des curarisants en anesthésiologie.

c) DÉTERMINATION DU TYPE DE CURARISATION :

L'enregistrement simultané des contractions d'un muscle blanc et d'un muscle rouge, le comportement de ces muscles vis-à-vis d'une stimulation tétanique au cours d'une curarisation, fournissent d'utiles renseignements sur le mécanisme d'action d'une substance curarisante inconnue (1).

d) ETUDE DES MODIFICATEURS DE LA CURARISATION :

Toute influence sur la curarisation pourra être facilement étudiée, qu'elle soit antagoniste ou potentialisante :

— ETUDE D'UNE ACTION ANTAGONISTE : on administre d'abord le curarisant de manière à obtenir un arrêt presque total des contractions (paralyse de 90 p. cent environ), puis au moment où les contractions commencent à reprendre, on injecte l'antagoniste éventuel qui, s'il est actif, entraînera une reprise plus rapide des contractions vers l'amplitude d'origine. On devra ne tenir compte que des phénomènes très nets qui pourront nous donner toute certitude d'une action antagoniste. L'étude de l'action antagoniste à titre préventif est un peu plus délicate en raison d'un phénomène de sensibilisation de la préparation aux doses ultérieures (2). Néanmoins en attendant suffisamment longtemps entre les essais, on peut voir après une dose test de curarisant, de combien il faut augmenter cette dose pour obtenir un même effet après administration de l'antagoniste.

— ETUDE D'UNE ACTION POTENTIALISANTE : comme dans l'étude précédente, on pourra administrer le curarisant à des doses permettant d'atteindre une paralysie de 60 à 70 p. cent. Après avoir bien observé la tendance à la reprise spontanée des contractions, on injecte la substance potentialisante, on observe alors une nouvelle diminution des contractions pouvant aller suivant les cas jusqu'à un arrêt complet, quelquefois même prolongé. Pour qu'une substance soit dite potentialisante, il faudra vérifier auparavant qu'elle ne présente pas de propriétés curarisantes propres, sinon on aurait à faire à une synergie ou une addition de deux effets de même ordre.

La potentialisation à titre préventif pourra être également étudiée en faisant les mêmes objections que précédemment, c'est-à-dire en espaçant suffisamment les injections pour éliminer la sensibilisation propre de la préparation. Prenons un exemple : une première dose très faible de curarisant est administrée pour vérifier qu'elle est absolument inefficace ; après une heure ou plus, on injecte la substance potentialisante

(1) Voir p. 42 à 47 les caractères différentiels des trois types de curarisation.

(2) Voir p. 59.

suivie de la faible dose de curarisant utilisée lors de la première injection : on peut observer avec cette faible dose vérifiée, préalablement inactive, des curarisations pouvant atteindre, suivant les produits étudiés, la curarisation complète.

Cet effet potentialisateur à titre préventif est toujours plus difficile à mettre en évidence :

— la sensibilité à une première dose de curarisant varie d'un animal à l'autre dans des proportions relativement larges ;

— pour des animaux présentant une sensibilité identique à une première dose, les effets obtenus avec une deuxième dose peuvent être différents.

Cette inconstance rend difficile l'interprétation d'une potentialisation préventive.

Il semble, d'autre part, qu'une augmentation d'effet se produise moins facilement sur une préparation neuromusculaire intacte, sans doute en raison de la « marge de sécurité » ⁽¹⁾ dont est pourvue la jonction myoneurale ; une préparation déjà curarisée est plus sensible à une faible action curarisante complémentaire.

7° LIMITES D'EMPLOI DU MONTAGE NEUROMUSCULAIRE *IN SITU*.

— Tout d'abord le fait de n'observer que l'action globale du phénomène, sans pouvoir, dans bien des cas, mettre en évidence le mécanisme intime de l'action. Seuls des artifices pharmacologiques peuvent permettre d'aller plus avant dans l'étude de ce mécanisme (emploi de substances complémentaires dont les effets sont bien connus) en étant toutefois très prudent sur les conclusions que l'on peut en tirer.

— Une autre limite est la difficulté d'obtenir des renseignements absolument quantitatifs : on observe, comme il l'a d'ailleurs été déjà signalé, une sensibilisation de la préparation au fur et à mesure que l'on renouvelle les doses. Ce phénomène est surtout observé pour la classe des curarimimétiques et d'autant plus que l'action du produit est plus prolongée. Disons qu'en faisant une moyenne de plusieurs expériences, on peut avoir une estimation de l'activité d'un produit mais pas plus. Enfin une telle préparation présente l'inconvénient de ne pouvoir faire que peu d'études sur un même montage : en effet, on a intérêt à espacer le plus possible les injections pour éviter l'interférence du produit administré préalablement.

(1) Voir p. 30.

En conclusion, les possibilités d'étude sont nombreuses, potentialisation de la contraction normale, curarisation avec détermination du type de blocage, potentialisation ou antagonisme de cette curarisation, pouvant être doublées de renseignements sur la respiration, sur la pression artérielle... De plus, cette technique permet de montrer la spécificité d'action de la substance étudiée.

Toutefois, il ne faut pas espérer obtenir de renseignements sur le mécanisme intime ni de résultats quantitatifs.

II. — LES AUTRES TECHNIQUES UTILISEES

D'autres techniques d'étude des curarisants ont été utilisées au cours de notre travail. Nous n'en donnerons que les grandes lignes, les détails pratiques pouvant être retrouvés dans un article du professeur J. CHEYMOL sur l'« Appréciation qualitative et quantitative d'une substance curarisante » (1957) [59].

1° MÉTHODE DE LA CHUTE DE LA TÊTE DU LAPIN

(« *Head-drop Method* ») :

C'est la technique mise au point par Mc INTYRE et HOLADAY [286], améliorée par le professeur J. CHEYMOL et Mademoiselle CORTEGGIANI [76]. Elle repose sur la suppression du tonus des muscles de la nuque et du cou, test très précoce, précédant nettement la paralysie des muscles respiratoires.

Un lapin de 2 à 3 kg est fixé sur le ventre à un appareil de contention ; l'animal a tendance, dans cette position, à relever la tête et à dresser les oreilles. La solution curarisante est injectée par perfusion lente dans une veine de la patte postérieure : on observe d'abord la chute spontanée des oreilles, bientôt suivie d'une atonie des muscles du cou qui permet de coucher la tête de l'animal de chaque côté sans qu'il puisse la redresser. On arrête à ce moment la perfusion, note le temps et le volume perfusé. La concentration de la solution et le débit de perfusion sont convenablement choisis pour que la chute de la tête se produise en 4 à 5 minutes : pour le chlorure de *d*-tubocurarine, nous utilisons une solution à 0,25 mg/ml et un débit de 0,3 à 0,4 ml/min.

2° MONTAGE DU *rectus abdominis* DE GRENOUILLE :

Ce test décrit par GARCIA de JALON [121] est simple et facilement réalisable.

Le *rectus abdominis* est isolé et monté dans un bain de RINGER aéré ; un myographe permet l'enregistrement des contractures provoquées par l'acétylcholine ou tout autre dépolarisant.

3° PRÉPARATION NERF PHRÉNIQUE-DIAPHRAGME ISOLÉS DE RAT (technique d'E. BÜLBRING [43]) :

La moitié gauche ou droite d'un diaphragme pourvue de son nerf phrénique est découpée en forme de triangle. La préparation est immergée dans un bain de Tyrode enrichi en glucose (1 g/l) et oxygéné par du carbogène à 5 p. cent de CO_2 . Le nerf est stimulé à intervalles réguliers, par des courants rectangulaires (fréquence 6/minute, voltage 5 à 7 volts, largeur 0,1 milliseconde). L'électrode négative est constituée par un petit tube de verre obturé par une fine membrane de caoutchouc, rempli de Tyrode et dans lequel plonge un fil de platine ; l'extrémité du nerf est passée à travers la membrane. L'électrode positive en platine est placée dans le bain.

On enregistre au moyen d'un myographe les contractions du diaphragme.

4° DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ ANTICHOLINESTÉRASIQUE :

Deux méthodes peuvent être suivies :

- la méthode manométrique de WARBURG,
- la méthode acidimétrique directe.

MÉTHODE MANOMÉTRIQUE DE WARBURG (technique d'AMMON [6-7]). Dans cette méthode, la préparation enzymatique est constituée soit par la pseudocholinestérase du sérum humain (sérum dilué au 1/20 avec du liquide de RINGER bicarbonaté à 2 p. 1000), soit par la cholinestérase vraie du cerveau de Cobaye (cerveau broyé dans un appareil de POTTER avec 5 fois son poids de liquide de RINGER bicarbonaté : l'émulsion cérébrale est diluée 6 fois). L'estérase libère l'acide acétique de l'acétylcholine. L'acide libère le CO_2 du bicarbonate contenu dans le substrat. On mesure le volume gazeux dégagé.

La préparation enzymatique (1 ml) est placée dans la fiole de WARBURG, la solution neutralisée d'acétylcholine à 2 p. 100 (0,5 ml) est placée dans la tubulure latérale. La fiole est remplie d'un mélange d'azote (95 vol.) et de gaz carbonique (5 vol.), puis placée dans un bain-marie à 38°. On note le dégagement gazeux toutes les dix minutes pendant une heure, comptée à partir du moment où l'enzyme et le substrat sont mis en contact.

On utilise une série de fioles contenant soit les essais témoins (sans inhibiteurs), soit les essais de substances inhibitrices (quantités croissantes dissoutes dans 0,1 ml de solution). On détermine la quantité nécessaire pour obtenir une diminution de dégagement gazeux de 25 p. 100. Les résultats sont exprimés en poids de substance provoquant cette inhibition de 25 p. cent.

MÉTHODE ACIDIMÉTRIQUE DIRECTE (Technique de , HALL et LUCAS [143]).

La solution du composé inhibiteur (0,1 ml) est mise en contact avec le sérum humain (1 ml) pendant 15 minutes à température ordinaire.

Pendant ce temps, on prépare trois fioles de 100 ml :

- 1 — Témoin :
40 ml d'eau + 10 ml d'acétylcholine à 2 p. 1000.
- 2 — Activité cholinestérasique totale :
39 ml d'eau + 1 ml de sérum + 10 ml d'acétylcholine à 2 p. 1000.
- 3 — Activité cholinestérasique partiellement inhibée :
39 ml d'eau + 1,1 ml mélange (sérum + inhibiteur) + 10 ml d'acétylcholine à 2 p. 1000.

On ajoute 4 gouttes de solution de rouge de crésol, place au B. M à 38° C et neutralise par la NaOH N/100. On note les chutes de burette toutes les 5 minutes pendant 20 minutes.

On cherche la dose d'inhibiteur qui diminue de 25 p. 100 l'activité cholinestérasique.

TROISIEME PARTIE

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX
ESSAIS D'INTERPRÉTATION

CHAPITRE I

DERIVES SOUFRES MINERAUX

INTRODUCTION.

I. RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.

Hyposulfite de sodium
de calcium
de potassium
de magnésium
d'ammonium

Tétrathionate

Sulfocyanure.

II. DISCUSSION DES RÉSULTATS. ESSAI D'INTERPRÉTATION.

Ion hyposulfite et ions métalliques
Ion tétrathionate
Ion sulfocyanure.

CONCLUSIONS.

Dans ses ions minéraux, l'atome de soufre présente une grande variété de degrés d'oxydation : allant de la valence +6 dans les ions sulfuriques à la valence +1 dans l'ion thiosulfoxylique et à la valence -2 dans les sulfures. La facilité qu'ont ces différents ions à passer d'un degré d'oxydation à l'autre, permet la formation de nombreux systèmes réversibles d'oxydo-réduction.

Notre expérimentation a porté sur l'ion hyposulfite (ou thiosulfate), l'ion tétrathionate et un anion particulier dans lequel l'atome de soufre est directement lié au carbone : l'ion sulfocyanure. La salification de l'ion hyposulfite par différents ions métalliques a permis d'obtenir des molécules dans lesquelles l'activité est imposée soit par l'anion, soit par le cation.

Dans l'ion hyposulfite (ou thiosulfate) $S_2O_3^{--}$ ou $\left[\begin{array}{c} \text{O} \swarrow \quad \searrow \text{S} \swarrow \quad \searrow \text{S}^- \\ \text{O} \swarrow \quad \searrow \end{array} \right]^{--}$

le S est à la valence +2 ; cet ion est réducteur et peut être oxydé suivant le cas : en sulfate (valence +6) par action du chlore ; en sulfite (valence +4) par action de l'ion cyanure avec formation de sulfocyanure ; en tétrathionate par action de l'iode ou d'un sel ferrique. Les solutions d'hyposulfite sont généralement peu stables et peuvent former des complexes.

L'ion tétrathionate $S_4O_6^{--}$ ou $\left[\text{S} \leftarrow \begin{array}{l} \text{SO}_2-\text{O} \\ \text{S} \\ \text{SO}_2-\text{O} \end{array} \right]^{--}$, stable en

milieu acide, est très sensible aux pH alcalins.

L'ion sulfocyanure $[\text{S}=\text{C}=\text{N}]^-$ ou $[\text{N}\equiv\text{C}-\text{S}]^-$, électrolyte fort, est stable en solution aqueuse.

I. — RESULTATS EXPERIMENTAUX (1)

HYPOSULFITE DE SODIUM

1° Sur la préparation sciatique-tibial antérieur du Lapin.

Après curarisation par la *d*-tubocurarine (*d*-TC), l'hyposulfite de sodium est capable de rétablir la contraction du tibial antérieur ; à la dose

(1) Certains de ces résultats ont été déjà publiés (CHEYMOL et Coll. [65]).

de 20 mg/kg l'action est faible mais par augmentation de la dose injectée (50 - 100 - 150 - 200 mg/kg) l'antagonisme est de plus en plus net. La reprise des contractions est totale mais toujours progressive, comme on peut le voir sur le tracé 1 de la fig. 22.

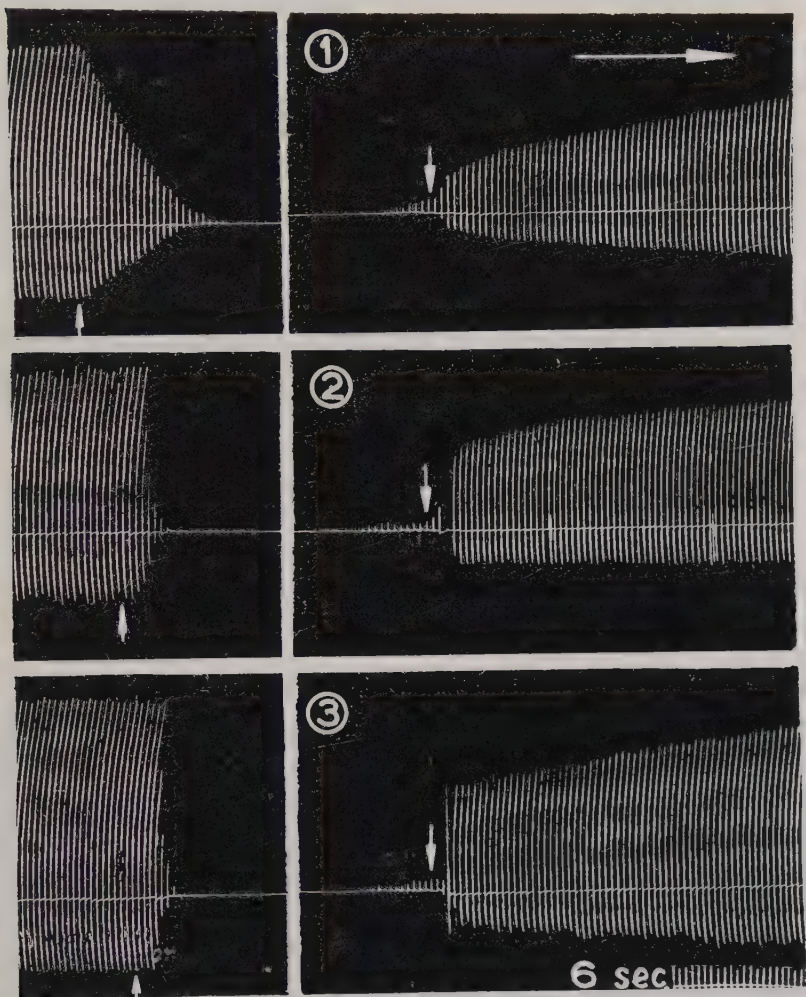


FIGURE 22.

Antagonisme de la curarisation par les hyposulfites de sodium, calcium, potassium (préparation sciatique-tibial antérieur de Lapin).

A gauche ↑ : curarisations par la *d*-tubocurarine.

A droite ↓

en 1 : hyposulfite de sodium	150 mg/kg
en 2 : hyposulfite de calcium	150 mg/kg
en 3 : hyposulfite de potassium	50 mg/kg

Ext. de [65].

Cet antagonisme peut être observé également quand la paralysie a été provoquée par un autre curarimimétique, le 336 HC : la reprise des contractions est totale mais progressive avec des doses de 50 à 150 mg/kg.

Nous avons également mis en évidence une action antagoniste de l'hyposulfite de sodium (20 à 100 mg/kg) vis-à-vis de l'action paralysante de l'hyposulfite de magnésium.

Par contre, après paralysie par un acétylcholinomimétique, le 606 HC, on observe par action de l'hyposulfite de sodium par voie veineuse (100 mg/kg) une légère recurarisation ; par voie artérielle aux doses de 100 ou 150 mg/kg, cette recurarisation est précédée d'une contracture fugace.

2° Sur la préparation sciatique-tibial antérieur et soléaire du Chat.

Les propriétés antagonistes de l'hyposulfite de sodium vis-à-vis de la *d*-TC n'ont pu être retrouvées chez le Chat, quelle que soit la dose (100 mg/kg à 2 g/kg) et quelle que soit la voie d'administration (veineuse ou artérielle).

HYPOSULFITE DE CALCIUM

Vis-à-vis de la *d*-TC, sur la préparation neuromusculaire *in situ* du Lapin, l'hyposulfite de calcium aux doses de 100 ou 150 mg/kg exerce une action antagoniste nette plus marquée que pour le sel de sodium. Toutefois, dans la plupart des cas, si la curarisation a été profonde, la reprise des contractions n'atteint pas l'amplitude d'origine (voir tracé 2 de la fig. 22).

HYPOSULFITE DE POTASSIUM

Après curarisation par la *d*-TC, l'hyposulfite de potassium entraîne à la dose de 20 mg/kg une reprise rapide et totale des contractions. A plus fortes doses (100 mg/kg) l'action antagoniste est encore plus nette et plus rapide. Le tracé 3 de la fig. 22 montre l'action de 50 mg/kg d'hyposulfite de potassium sur la préparation sciatique-tibial antérieur du Lapin.

HYPOSULFITE DE MAGNÉSIUM

L'hyposulfite de magnésium, contrairement aux sels étudiés jusqu'ici, renforce la curarisation par la *d*-TC ; celle-ci est immédiate et profonde, quelle que soit la dose d'hyposulfite de magnésium administrée ; après des doses inférieures à 50 mg/kg, la néostigmine est capable de rétablir une contraction normale mais elle l'est beaucoup moins après des doses plus fortes (50 à 200 mg/kg) (voir tracé inférieur de la fig. 23).

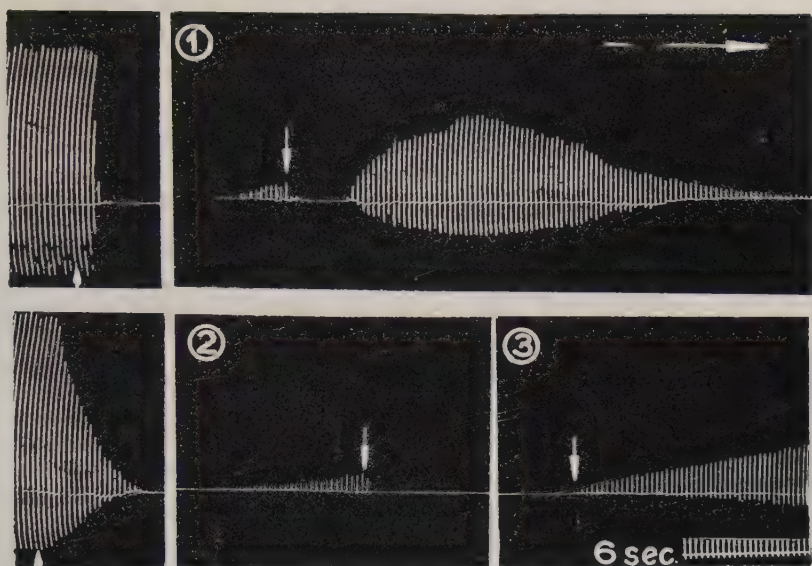


FIGURE 23.

Action des hyposulfites d'ammonium et de magnésium sur la curarisation (préparation sciatique-tibial antérieur du Lapin).

Tracés de gauche en ↑ : curarisations par *d*-tubocurarine.
 Tracés de droite en 1 ↓ : hyposulfite d'ammonium 100 mg/kg
 en 2 ↓ : hyposulfite de magnésium 100 mg/kg
 en 3 ↓ : néostigmine 200 µg/kg

Ext. de [65].

(Clichés réduits au 10/13^e).

La même action est observée après curarisation par le 336 HC, à la dose de 20 mg/kg, l'hyposulfite de magnésium produit une recurarisation passagère suivie de la reprise spontanée des contractions. A 50 mg/kg, l'action est beaucoup plus intense.

HYPOSULFITE D'AMMONIUM

L'hyposulfite d'ammonium à faibles doses (20 mg/kg) administrées par voie veineuse ne modifie pas la paralysie de la préparation sciatique-tibial antérieur du Lapin obtenue après administration de *d*-TC.

Par contre, à plus fortes doses, 50 à 100 mg/kg, il donne lieu à un phénomène complexe d'autant plus net que la dose est plus élevée. Le tracé supérieur de la fig. 23 reproduit une de nos expériences ; on peut observer quatre phases :

- recurarisation rapide et fugace,
- reprise des contractions rapide mais partielle,

- recurarisation lente et progressive jusqu'à la paralysie complète,
- retour progressif (non figuré dans le tracé) jusqu'à l'amplitude d'origine.

L'importance relative de chacune de ces phases varie suivant la dose d'hyposulfite d'ammonium injectée et suivant les animaux.

TÉTRATHIONATES

L'ion tétrathionate, très instable, évolue plus ou moins rapidement, par des réactions d'oxydoréduction, vers un mélange complexe de plusieurs ions. Nous avons toujours utilisé une solution fraîchement préparée.

Le tétrathionate de sodium, même à doses fortes (100 mg/kg), n'exerce après curarisation par la *d*-TC qu'une très faible potentialisation de la paralysie ne gênant pas le retour spontané progressif à l'amplitude d'origine.

Nous avons essayé le tétrathionate de diéthylamine aux mêmes doses que le sel de sodium : la potentialisation de la curarisation est beaucoup plus marquée, que le produit soit administré après ou en même temps que le curarisant. Il n'exerce aucun effet toxique sur la préparation, car dans toutes nos expériences la néostigmine restaure intégralement la transmission neuromusculaire.

SULFOCYANURE DE SODIUM

Chez le Lapin, le sulfocyanure de sodium, injecté par voie veineuse à la dose de 100 mg/kg, produit après curarisation par la *d*-TC, une légère contracture passagère n'influençant ni l'amplitude des contractions ni leur retour progressif spontané au niveau d'origine.

II. — DISCUSSION DES RESULTATS ESSAI D'INTERPRETATION

L'action de chacun des sels étudiés sera analysée en fonction de son anion et de son cation et de la prédominance de l'un sur l'autre. Nous essaierons de tirer de ces résultats, une orientation générale de l'activité de ces ions soufrés minéraux.

HYPOSULFITE DE SODIUM

1° Rôle de l'ion sodium :

Pour Z. M. BACQ [11], le sodium serait contracturant sur le *rectus* d'amphibiens veratriné mais à concentrations élevées.

D'après ACHESON [1], le sodium n'intervient pas dans le maintien du potentiel de membrane ; il jouerait seulement un rôle important dans le mécanisme sous-jacent à l'excitation et au potentiel d'action (voir p. 109).

Toutefois, les faibles doses de sodium administrées par voie veineuse lors de nos expériences ne doivent pas troubler l'équilibre de l'ion sodium au niveau cellulaire ; on peut admettre qu'il se comporte comme un ion sans activité propre. D'ailleurs des expériences pratiquées avec des doses équimoléculaires de sulfate de sodium permettent de conclure à l'inactivité complète de ce sel.

2° Rôle de l'ion hyposulfite :

D'après les remarques précédentes, on peut admettre que l'action de l'ion hyposulfite est pratiquement pure après administration de son sel de sodium.

Z. M. BACQ [12-13] et COPPÉE [82] ont montré que l'ion hyposulfite sensibilise la préparation de *rectus* isolé d'amphibiens au potassium et par voie de conséquence à la phase potassique de l'action de l'acétylcholine. Cette sensibilisation à l'acétylcholine n'est pas due à une action anticholinestérasique, car nous n'avons pas pu mettre en évidence une telle propriété vis-à-vis de la pseudo-cholinestérase du sérum humain (1) et DHELLEME [94] a montré au contraire un effet activateur de l'activité cholinestérasique du sérum humain par l'ion hyposulfite.

Cette action sensibilisante au potassium permettrait d'expliquer les phénomènes d'antagonisme que nous avons observés.

En effet, les ions potassiums sont doués, comme nous le verrons plus loin (p. 111) de propriétés décurarisantes ; l'hyposulfite sensibiliserait la préparation neuromusculaire aux quantités physiologiquement présentes de potassium qui seraient alors capables de s'opposer aux effets de la *d*-TC. L'existence de réactions biochimiques lentes dans ce phénomène de sensibilisation expliquerait le caractère progressif de l'action antagoniste.

Les effets de l'hyposulfite de sodium vis-à-vis d'autres blocages neuromusculaires plaident en faveur de cette hypothèse :

— l'hyposulfite de magnésium (voir plus loin p. 111) provoque une paralysie due au cation, se rapprochant de celle d'un curarimimétique : l'antagonisme Mg^{++}/K^{+} , phénomène biologique classique, constituerait le mécanisme intime de l'action décurarisante que nous avons constatée après administration d'hyposulfite de sodium ;

— le blocage neuromusculaire par dépolarisation auquel conduit un acétylcholinomimétique, s'accompagne d'une fuite des ions K^{+} vers les

(1) Voir technique p. 94.

liquides extracellulaires ⁽¹⁾ ; si l'hyposulfite de sodium sensibilise encore l'animal à ces ions, il augmente leurs effets dépolarisants et accentuera la paralysie : c'est ce que nous avons observé avec le 606 HC.

S'il est possible d'admettre cette hypothèse de la sensibilisation au potassium chez le Lapin, elle n'implique pas forcément une activité anticurare en raison de nos expériences négatives, chez d'autres espèces animales telles que le Chat. COPPÉE [82] dénie d'ailleurs à l'hyposulfite toute propriété décurarisante, mais son expérimentation a été principalement faite sur les batraciens.

HYPOSULFITE DE CALCIUM

Comment l'ion Ca^{++} va-t-il influencer l'action de l'ion hyposulfite ?

Dans nos essais, l'hyposulfite de calcium s'est avéré doué de propriétés décurarisantes plus marquées que le sel de sodium, ceci est à *a priori* inattendu, étant donné l'antagonisme réciproque habituel de l'ion K^+ et de l'ion Ca^{++} qui nous autorisait à prévoir une potentialisation.

Z. M. BACQ [11], en effet, signale l'antagonisme calcium/potassium sur la contracture potassique du *rectus* d'amphibiens. Cet effet est lent, durable et se produit pour égalité de concentration ionique. Z. M. BACQ fait rentrer l'ion Ca^{++} dans la classe des ions inhibiteurs à côté de l'ion Mg^{++} . Ces deux ions sont tous les deux des inactivateurs de la pseudo-cholinestérase (MASSART et DUFAIT [211]). HUNT et KUFFLER [157] indiquent qu'une diminution en ions calcium conduit à une instabilité de la transmission neuromusculaire avec fluctuations oscillatoires, alors qu'une augmentation réduit l'excitabilité, et ralentit puis bloque cette transmission.

VANREMOORTERE et LECOMTE [285], lors du colloque du CNRS sur le potassium, présentent l'ion Ca^{++} comme un désensibilisant au K^+ à côté de substances anesthésiques locales et antihistaminiques.

FESSARD [114] signale la diminution par les ions Ca^{++} de l'action potentialisatrice de la contraction maximale due au potassium.

VAN DE WALLE [291] admet que le calcium augmente l'amplitude du potentiel de plaque mais diminue l'excitabilité de la fibre musculaire.

FESSARD et POSTERNAK [115] rapportent qu'un excès d'ions Ca^{++} bloque la transmission par élévation du seuil d'excitabilité de la fibre musculaire (d'après KUFFLER [191] et COPPÉE [83]).

Enfin pour MONNIER [216] l'ion Ca^{++} augmente la polarisation cellulaire, diminue la perméabilité aux ions et diminue l'excitabilité.

Les études détaillées de COPPÉE [83] qui décrit les effets de l'ion Ca^{++} sur le potentiel de plaque et sur l'excitabilité musculaire et la revue

(1) Voir p. 45, 50 et 51.

générale de F. BRINK [33], nous permettent d'envisager une explication aux résultats de nos expériences.

Si les faibles concentrations, comme les fortes, conduisent à un blocage de la transmission, il existe un domaine relativement large de concentrations en ions Ca^{++} compatible avec un fonctionnement normal de cette transmission et même favorisant la reprise de contractions inhibées par le curare.

Quel est le mécanisme d'action des ions Ca^{++} au niveau de la transmission neuromusculaire qui permette d'expliquer la variation de leurs effets en fonction de la concentration ? Il est double : modifications du potentiel de plaque motrice (ppm) et modifications du seuil de sensibilité de la fibre musculaire, c'est-à-dire de son excitabilité :

— Sur le potentiel de plaque motrice : la variation du ppm en fonction de la concentration en ions Ca^{++} a la forme générale d'une courbe en cloche, faible potentiel pour les faibles et fortes concentrations, potentiel plus élevé pour les concentrations moyennes. Ce n'est pas la sensibilité de la plaque qui varie comme dans la curarisation ⁽¹⁾ mais la quantité de transmetteur libérée par chaque influx nerveux.

— Le seuil de sensibilité musculaire dans les mêmes conditions présente une courbe légèrement concave pour les faibles concentrations, plus élevée pour les fortes concentrations. L'hyperexcitabilité musculaire observée quand le calcium est en trop faible proportion, explique les phénomènes de contractions spontanées avec fluctuations oscillatoires observées sur des muscles déficients en calcium même curarisés (KUFFLER [188-190]) ; ce dernier fait prouve l'origine post-jonctionnelle, c'est-à-dire musculaire, de ces phénomènes.

La résultante de ces deux variations simultanées en fonction de la concentration en calcium conduit donc aux effets suivants :

— aux fortes concentrations : blocage de la transmission par diminution du ppm et diminution marquée de l'excitabilité musculaire ;

— aux faibles concentrations : blocage de la transmission par intense diminution du ppm, malgré l'augmentation de l'excitabilité musculaire ;

— aux concentrations moyennes : l'excitabilité de la fibre musculaire est légèrement diminuée mais le ppm subit une augmentation importante facilitant en définitive la transmission. C'est dans ce domaine moyen que doivent se situer nos conditions expérimentales, expliquant le renforcement de l'action décurarisante de l'hyposulfite par les ions Ca^{++} .

COPPÉE [83], malgré cet ensemble de faits qui seraient, dans cer-

(1) Voir mécanisme de la transmission et de la curarisation aux Chap. I et II 1^{re} partie.

taines limites de concentration, favorables à une action anticurare des ions Ca^{++} , n'a jamais pu mettre une telle action en évidence sur sa préparation sciatique-couturier de Grenouille. FENG pourtant [108], dans des expériences sur Grenouille entière, conclut à la prévention de la curarisation par administration de sels de calcium.

Si nous admettons les conclusions de COPPÉE [83] sur le mécanisme d'action de l'ion Ca^{++} , comment expliquer les divergences de nos résultats expérimentaux avec les siens ?

— d'une part, nous avons utilisé l'animal entier, et nos observations faites sur le Lapin n'ont pas été retrouvées sur le Chat, ce qui ne nous autorise pas à généraliser cette action ;

— d'autre part, l'ion Ca^{++} n'est pas seul et la présence de l'hyposulfite sensibilisant au potassium peut faciliter l'action décurarisante de l'ion Ca^{++} .

Il est donc possible d'admettre, en conclusion, que les deux ions de l'hyposulfite de calcium additionnent leurs effets respectifs pour doter la molécule entière de propriétés antagonistes du curare.

HYPOSULFITE DE POTASSIUM

Si nous expliquons le mécanisme d'action anticurare de l'hyposulfite par ses propriétés sensibilisantes au potassium, nous admettons dans cette molécule un renforcement de l'action du cation par celle de l'anion.

Les propriétés décurarisantes à faibles doses de l'ion K^+ sont bien connues, admises par tous et expliquées par les différents auteurs de façons à peu près identiques. Quel est donc le rôle de cet ion et son mode d'action sur le muscle normal et sur le muscle curarisé ?

1° Le rôle physiologique de l'ion potassium nous est expliqué dans le rapport de M. MONNIER [216] lors du colloque du CNRS sur le potassium :

A chaque instant l'action de l'ion K^+ est fonction des effets exercés par l'ion Na^+ et l'ion Ca^{++} ; il existe entre eux une dissymétrie ionique de part et d'autre d'une membrane cellulaire, liée à sa polarisation électrique, polarisation qui résulte elle-même de l'activité du métabolisme cellulaire. L'excitation électrique du tissu correspond à une modification de polarisation de la membrane, liée aux mouvements des cations à travers elle.

Mais la polarisation d'une membrane est-elle l'effet ou la cause de l'inégale répartition de l'ion potassium ?

D'après les faits, elle en serait la cause : la polarisation résulterait

d'un mécanisme encore inconnu dont l'énergie serait d'origine métabolique. De ce fait, les ions potassium seraient attirés de l'extérieur et accumulés à l'intérieur de la cellule jusqu'à ce que le rapport des concentrations en potassium extérieur et intérieur corresponde à une différence de potentiel égale à la force électromotrice de la structure polarisée. L'équilibre serait facilement maintenu, la perméabilité étant très faible.

D'après les travaux de HODGKIN, résumés par BACQ [14], les ions potassium dans cette répartition inégale auraient un rôle passif ; le rôle actif revenant à un « pompage » des ions sodium.

Une injection de sel de potassium va augmenter la concentration du potassium extracellulaire et de ce fait modifiera l'équilibre. Quels vont être les effets de cette modification pharmacologique au niveau de la transmission neuromusculaire ?

2° Par injection de chlorure de potassium, on observe une secousse tétanique et un blocage mais à plus faibles doses il se produit une potentialisation de la contraction maximale indirecte (BROWN [38], BROWN et VON EULER [40], COPPÉE [82], HAJDU et coll. [141]...).

a) Blocage neuromusculaire par le potassium :

BUCHTHAL et LINDHARD [42] observent sur une préparation de fibres isolées de lézard une contraction tétanique rapide par application de microdoses de ClK. Ils localisent cette action à la plaque et plus précisément à la frontière plaque-sarcoplasme.

Pour COPPÉE [82], l'ion potassium produirait une diminution de « l'onde lente de sole » (ppm) mais le facteur essentiel du blocage par les doses élevées est un arrêt de la propagation du potentiel d'action musculaire dans la fibre au voisinage immédiat de la sole (plaque motrice), ce potentiel d'action étant trop faible pour assurer son autopropagation.

VAN DE WALLE [291] admet à la suite de COPPÉE une action sur la plaque conduisant à une diminution de l'amplitude du potentiel de plaque mais à cette action s'ajoute une augmentation de l'excitabilité des fibres musculaires.

FESSARD [114] résume ainsi les caractéristiques du blocage par le potassium :

- il se produit pour des concentrations à peu près doubles des concentrations physiologiques ;
- il est précédé d'une phase de renforcement des contractions ;
- il est combattu par les ions Mg^{++} et Ca^{++} ;
- il est rapidement réversible par lavage ;
- le potassium exerce une action dépolarisante sur tout élément exci-

table ⁽¹⁾ et c'est un excès de dépolarisation qui conduit à l'inexcitabilité du muscle et du nerf avec diminution des potentiels d'action et allongement des périodes réfractaires. Il n'y a pas d'action élective sur la plaque motrice : les fibres nerveuses et musculaires sont aussi atteintes mais la diminution du potentiel de plaque motrice serait, aux doses modérées de potassium, la principale cause du blocage.

b) Potentialisation des contractions par le potassium :

A côté des effets de contracture et de blocage aux doses élevées, le potassium peut renforcer les contractions musculaires, les potentialiser, si les doses sont plus faibles. Cette potentialisation est liée aux propriétés dépolarisantes de l'ion K^+ .

HUNT et KUFFLER [157] rapportent que chez le Rat, l'ion potassium augmente la hauteur et la durée de la réponse musculaire d'un choc unique appliqué sur le nerf, avec diminution du potentiel d'action propagé et par conséquent diminution de la vitesse de conduction de cet influx musculaire.

FESSARD [114] fournit quelques hypothèses sur le mécanisme de cet effet potentialisateur ; il n'est pas uniquement localisé à la plaque motrice, car il persiste après curarisation complète et dénervation. Le K^+ augmenterait d'abord l'excitabilité par dépolarisation modérée de la fibre musculaire proprement dite. Il augmenterait de plus notablement le ppm (voir à ce sujet WALKER et LAPORTE [290], cités plus bas), mais cette action, d'après FATT et KATZ [106], serait fugace et inconstante. Il agirait enfin sur le médiateur de la transmission neuromusculaire : l'ion potassium mobilise l'acétylcholine sur certains effecteurs mais dans le cas du muscle strié, il n'y a que des preuves indirectes de cette action.

L'action sur le ppm du muscle curarisé de Grenouille, observée par WALKER et LAPORTE [290], après administration intra-artérielle de potassium, est assez significative de l'action générale de cet ion :

— il y a d'abord augmentation du ppm avec restauration partielle de la transmission ;

— puis le ppm augmentant toujours, un blocage de la transmission se produit ;

— enfin le ppm diminue d'amplitude.

On retrouve bien l'action diphasique favorisant puis bloquant la transmission de l'ion potassium sur laquelle insistent R. HAZARD et J. HAZARD [151] dans une étude générale sur la physiologie et la pharmacologie du potassium.

(1) KUFFLER [189] puis ACHESON [1] insistent sur le fait que la dépolarisation par l'ion K^+ n'est pas comme dans le cas de l'acétylcholine localisée à la plaque motrice et s'exerce aussi bien tout au long de la fibre musculaire.

3° Propriétés décurarisantes du potassium :

Cet effet potentialisateur complexe se manifeste d'ailleurs plus nettement sur des préparations neuromusculaires curarisées : on observe un véritable antagonisme que WILSON et WRIGHT [295] ont décrit les premiers chez le Chat. ROSENBLUETH et MORISON [254], FENG, LEE, MENG et WANG [109], COPPÉE [82], ALTAMIRANO et HUIDOBRO [4] ont repris par la suite cette étude.

La plupart des auteurs (voir FESSARD [114]) admettent pour les propriétés antagonistes, les mêmes mécanismes que pour la potentialisation : — augmentation de l'excitabilité résultant d'une dépolarisation modérée ; — accroissement du ppm ; — mobilisation du médiateur. QUILLIAM et TAYLOR [242], d'après leur étude sur le diaphragme de Rat de l'antagonisme quantitatif curare-potassium, admettent une compétition pour l'occupation d'un même récepteur.

A ces différentes propriétés pourraient être ajoutées l'action sur la contractilité et l'imbibition de la fibre musculaire rapportées par R. HAZARD et J. HAZARD [151].

En conclusion de nos expériences, les propriétés anticurares de l'hyposulfite de potassium chez le Lapin proviennent à la fois de l'anion et du cation, l'un renforçant l'action de l'autre.

HYPOSULFITE DE MAGNÉSIUM

Le cation Mg^{++} est curarisant, cette propriété masque l'action anticurarimimétique de l'anion hyposulfite et impose le sens de l'activité de la molécule entière.

Cette action dépressive de la transmission neuromusculaire est l'effet périphérique le plus précoce observé après administration d'un sel de magnésium. A doses convenables, une préparation devient inexcitable indirectement, alors que le muscle et le nerf le sont encore (JOLYET et CAHOURS (1869, [163]), JOSEPH et MELTZER (1909, [164-165]), BAUMECKER (1923, [19]), CLOETTA et coll. (1943, [80])). Mais après une action prolongée, le muscle, les nerfs périphériques et le système nerveux central sont atteints à leur tour.

Cette action est une action curarisante vraie (R. HAZARD et L. WURMSER [153]).

Mais, si bien des similitudes peuvent être observées entre l'action du curare et celle de l'ion Mg^{++} , des différences existent cependant : l'ion Mg est capable d'antagoniser l'action dépolarisante de K^+ , aussi bien que celle de l'acétylcholine, alors que le curare est incapable d'empêcher une dépolarisation par le K^+ , comme il le fait pour l'acétylcholine (ACHESON [1], ENGBAER [100]). Toutefois, la dose de Mg^{++}

nécessaire est 10 fois plus faible pour lutter contre l'action de K^+ que pour lutter contre celle de l'acétylcholine (Von HOF et SCHNEIDER [155]).

Les expériences de MAASKE, BOYD, BROSNAN [207] sur les phénomènes d'inhibition et de sommation sur des préparations partiellement curarisées par le curare et le Mg, montrent des différences nettes entre ces deux actions : pas d'inhibition avec Mg et inhibition avec curare.

BACQ [11] a montré que l'ion Mg^{++} , tout comme l'ion Ca^{++} , est capable d'antagoniser les effets de K^+ sur le muscle vératriné : ceci tendrait à grouper ces deux ions dans une même classe pharmacologique, mais les expériences de ASHKENAZ [9] mettent en évidence un antagonisme temporaire entre Mg et Ca.

Le mode d'action de l'ion magnésium a été étudié par Lise ENGBAER [101] et J. del CASTILLO et L. ENGBAER [49]. Des expériences électrophysiologiques précises ont permis une étude détaillée et une localisation de l'action de Mg au niveau de la jonction neuromusculaire.

L'ion magnésium agirait selon trois modes différents :

- en diminuant la quantité de transmetteur libéré au niveau des terminaisons nerveuses motrices ;
- en diminuant l'action dépolarisante de l'acétylcholine au niveau de la plaque motrice ;
- en déprimant l'excitabilité de la membrane de la fibre musculaire.

Mais le facteur le plus important de cette action est la réduction de la quantité de transmetteur libérée produisant une chute brutale de l'amplitude du potentiel de la plaque motrice.

D'ailleurs, l'antagonisme du Mg pour le Ca^{++} ne porte que sur ce facteur, les autres effets du Mg étant soit non touchés, soit au contraire renforcés par l'ion Ca^{++} .

Nous voyons donc que les faibles propriétés anticuraires de l'anion hyposulfite sont dissimulées dans la molécule d'hyposulfite de magnésium.

HYPOSULFITE D'AMMONIUM

La présence de l'ion NH^4 dans cette molécule vient perturber l'action propre de l'ion hyposulfite et influence de façon assez complexe la curarisation par la *d*-TC.

Quelles sont les propriétés connues jusqu'ici de l'ion $NH^4 +$?

On lui attribue en général des propriétés très voisines de celles de l'ion K^+ : il serait contracturant (BACQ [11], VANREMOORTERE et LECOMTE [285]). Des expériences comprenant des mesures de chronaxie sur la préparation neuromusculaire de Grenouille (P. REISS [248])

nous conduisent à considérer l'action de CINH^4 comme à peu près voisine de celle de ClK sur la jonction neuromusculaire ; toutefois la chronaxie ne peut être augmentée par le CINH^4 , même à fortes doses, alors que, avec le ClK , la chronaxie du muscle est élevée. Une similitude absolue avec le ClK ne peut donc être envisagée.

Nous avons effectivement observé une différence notable entre l'action des deux ions quand ceux-ci sont liés à l'anion hyposulfite : en effet, si l'hyposulfite de K est nettement antagoniste, l'hyposulfite d' NH^4 ne présente des propriétés antagonistes que de façon fugace et entre deux phases de recurarisation.

La comparaison avec le CINH^4 permet de voir ce qui, dans cette action complexe, revient à l'anion hyposulfite ; en effet, si on considère dans l'action de l'hyposulfite d'ammonium 3 phases actives, la 4^e phase étant le retour spontané, on observe simplement avec le chlorure d'ammonium deux recurarisations successives correspondant à deux effets différents, puisque bien espacés dans le temps : une première recurarisation faible et fugace, un temps de retour spontané de pente faible, puis une deuxième recurarisation plus progressive et plus profonde.

La différence entre les deux sels est donc constituée par la deuxième phase nettement antagoniste dans le cas de l'hyposulfite.

Dans l'hyposulfite d'ammonium l'action antagoniste de l'ion S^2O^3 — n'est donc que partiellement cachée.

TÉTRATHIONATES

L'ion tétrathionate, par son pouvoir oxydant, rentre dans le groupe des substances thiolooprives (propriété citée par VANREMOORTERE et LECOMTE [285]) : c'est-à-dire qu'il serait capable de bloquer de façon réversible ou irréversible les fonctions thiols de la cystéine, du glutathion et des protéines. C'est ainsi qu'il peut produire « l'effet Lundsgaard » de contracture et d'inexcitabilité musculaire progressive après travail du muscle. Cet effet est généralement attribué à un blocage de la « livraison énergétique » du muscle.

Cette propriété peut-elle expliquer la faible recurarisation observée après administration de tétrathionate ? Nous ne le pensons pas, car ce phénomène est presque instantané et de durée très limitée, puisque le retour spontané de la contraction s'effectue ensuite normalement sans traces d'une atteinte quelconque.

Si l'action du tétrathionate de diéthylamine est plus profonde, elle n'en conserve pas moins les mêmes caractéristiques que dans le cas du sel de sodium : potentialisation immédiate laissant intacte la préparation neuromusculaire, car on peut observer soit un retour progressif spontané jusqu'à la normale, soit une reprise rapide également jusqu'à l'amplitude

d'origine, sous l'influence de la néostigmine. La base organique augmente l'action de l'anion soit par diminution de son ionisation, soit en influençant sa perméabilité ou son élimination.

SULFOCYANURE DE SODIUM

L'anion sulfocyanure a été classé par BACQ [12-13] dans la catégorie des sensibilisateurs au potassium, à côté de la vératrine et de l'hypo-sulfite.

Il est capable de renforcer de façon puissante et immédiate avec une réversibilité parfaite le « raccourcissement » des muscles d'amphibiens provoqué par l'ion K^+ .

Il augmente la réponse du muscle à l'excitation électrique directe (R. HUNT [158], O. RIESSER [251], T. KITANO [178]) : la réponse électrique du muscle devient répétitive.

Il peut, comme la vératrine et l'hypo-sulfite, augmenter l'« after potentiel » négatif du nerf isolé (G. COPPÉE [81]).

Comme la plupart des sensibilisateurs au potassium, il renforce l'action de l'acétylcholine en dehors de toute action anticholinestérasique.

Pourtant à la différence de la vératrine (COPPÉE [82], VANREMOORTE et LECOMTE [285]) et de l'hypo-sulfite, il n'est pas décurarisant. Nos expériences confirment, sur le Lapin, ce qu'avaient déjà trouvé les auteurs belges.

Le sulfocyanure par l'absence de certaines propriétés (il ne produit pas d'effet Bezold-Jarish, il ne renforce pas l'adrénalino-sécrétion par le K^+) se séparait déjà des composés à action vératrinique.

Comment expliquer la contracture qui se produit après administration du sulfocyanure de sodium ?

Celle-ci peut être due, soit à une action propre sur la fibre musculaire, soit à une sensibilisation au potassium qui ne porterait que sur les propriétés contracturantes de ce cation. Nos expériences ne nous permettent pas de préciser ce problème.

TABEAU I
Rapport Constitution - Action des dérivés minéraux étudiés

	Valence du soufre	Effet sensibilisateur au K+ de l'anion (1)	Effets sur la curarisation
Hyposulfite de sodium	+ 2	+ + +	Antagonisme
— de calcium	+ 2	+ + +	Antagonisme
— de potassium	+ 2	+ + +	Antagonisme
— de magnésium	+ 2	+ + +	Potentialisation
— d'ammonium	+ 2	+ + +	Action complexe en 3 phases
Tétrathionate de sodium		0	Potentialisation
— de diéthylamine .		0	Potentialisation
Sulfocyanure de sodium	+ 2	+ + +	Sans effet mais contracturant

(1) J. CHEYMOL et J. DUTEL, expériences non publiées.

CONCLUSIONS

Nos résultats expérimentaux ont été réunis dans le Tableau I.

Admettant que les propriétés de l'hyposulfite de sodium reflètent fidèlement celles de son anion, nous pouvons dire que l'ion hyposulfite antagonise, sur la préparation nerf sciatique - muscle tibial antérieur de Lapin, les effets paralysants des molécules curarimimétiques.

Cette propriété peut être liée au pouvoir sensibilisateur qu'exercerait l'anion hyposulfite vis-à-vis du potassium physiologiquement présent au niveau de la jonction neuromusculaire et doué de propriétés anticurares.

Il ne nous a pas été possible de retrouver cette action antagoniste sur la même préparation neuromusculaire du Chat. Le comportement différent de ces deux espèces animales vis-à-vis de l'ion hyposulfite peut être rapproché des réactions différentes de ces deux espèces animales aux effets dépolarisants des acétylcholinomimétiques : chez le Chat et le Chien, on observe après administration d'un acétylcholinomimétique, une fuite du potassium vers le liquide extracellulaire avec augmentation de la teneur du plasma en potassium ; chez le Lapin au contraire aucune élévation du potassium plasmatique n'est constatée (1).

Cet effet antagoniste de l'ion hyposulfite peut être diversement influencé par le cation qui le salifie :

— dans l'hyposulfite de calcium et surtout dans l'hyposulfite de potassium, il y a addition des effets de l'anion et du cation ;

— dans l'hyposulfite de magnésium, l'ion magnésium doué de propriétés curarisantes, impose son activité à la molécule ;

— dans l'hyposulfite d'ammonium, les effets antagonistes de l'anion persistent, mais de façon fugace, dans le tableau de l'action complète exercée par le cation.

L'ion sulfocyanure — malgré son pouvoir sensibilisateur puissant vis-à-vis du potassium — n'antagonise pas les effets curarisants de la *d*-TC.

L'ion tétrathionate — sous forme de sel de sodium — potentialise faiblement une curarisation expérimentale. Son action est plus marquée sous forme de sel de diéthylamine.

(1) D'après VANREMOORTERE et LECOMTE (1954) [285].

CHAPITRE II

ACIDES AMINES SOUFRES ET DERIVES THIODERIVES ORGANIQUES DE FAIBLE POIDS MOLECULAIRE

INTRODUCTION.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX :

- Cystéine, cystéamine, amino-éthylisothio-urée, taurine, homocystéine.
- Méthionine, acétylméthionine, hydantoïne de la méthionine.
- Thio-urée et dérivés N-diméthylés et tétraméthylés.
- Dimercaprol, Aurothiopropansulfonate, Bromure de dithiocholine.
- Acide thénoïque, Mercaptothiazoline, Aminothiazol, propylthio-uracyle.

DISCUSSION DES RÉSULTATS — ESSAI D'INTERPRÉTATION :

1° Groupe de la cystéine :

- a) action sur la transmission neuromusculaire,
- b) action sur la curarisation.

2° Groupe de la méthionine.

3° Groupe de la thio-urée.

4° Groupe des thio-dérivés acycliques.

5° Groupe des thio-dérivés hétérocycliques.

CONCLUSIONS :

- Influence du poids moléculaire.
- Chaînon soufré à deux atomes de carbone.
- Fonction thiol.
- Fonction acide aminé soufré.
- Fonction thio-urée.
- Groupement antithyroïdien.

Le rôle joué par les groupements —SH dans les réactions de biosynthèse de l'acétylcholine, a été mis en lumière par plusieurs biochimistes, parmi lesquels D. NACHMANSOHN [220] : les ions acétiques sont transformés en radicaux acétiques actifs par fixation sur le co-enzyme A sous l'influence de la trans-acétylase. Un deuxième système enzymatique, la choline-acétylase, permet le transfert du radical acétyle sur la choline. L'importance des fonctions thiols ⁽¹⁾ du co-enzyme A et l'effet activateur de la cystéine (LIPMANN - KAPLAN [204]) dans ces réactions ⁽²⁾, nous ont incité à étudier l'influence éventuelle de quelques acides aminés soufrés et de thio-dérivés de poids moléculaire voisin sur la transmission neuromusculaire et sur la curarisation.

Nous avons rassemblé dans ce chapitre les résultats expérimentaux de dix-huit composés dont la constitution et le poids moléculaire sont donnés dans les tableaux II et III.

Dans le premier tableau, figurent les acides aminés soufrés et les produits qui peuvent s'y rattacher :

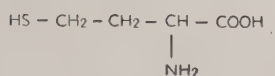
- groupe de la cystéine : cystéine,
cystéamine,
amino-éthylisothio-urée,
taurine,
homocystéine ;
- groupe de la méthionine : *d-l*-méthionine,
d-l-acétylméthionine,
hydantoïne de la méthionine.

(1) Le radical acétyle actif est fixé sur la fonction —SH de la mercapto-éthylamine du Co-enzyme A. Le chaînon mercapto-éthylamine (ou cystéamine) ne serait pas directement incorporé au Co-enzyme A mais c'est la cystéine qui se couple à l'acide pantothénique et qui est ensuite décarboxylée (W. VERLY cité par Z. M. BACQ [15]).

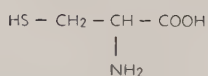
(2) Celles-ci ont été étudiées avec le tissu cérébral : il est simplement permis de supposer de telles réactions au niveau de la jonction myoneurale.

TABLEAU II

Constitution de quelques acides aminés soufrés et de leurs dérivés



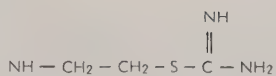
Cystéine
PM : 121



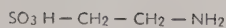
Homocystéine
PM : 135



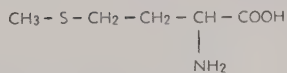
Cystéamine
PM : 77



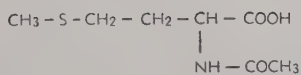
Amino-éthylisothio-urée (A.E.I.T.)
PM : 119



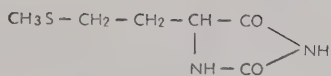
Taurine
PM : 125



Méthionine
PM : 149



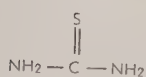
Acétylméthionine
PM : 191



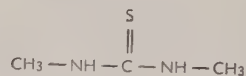
Hydantoïne de la Méthionine
PM : 174

TABLEAU III

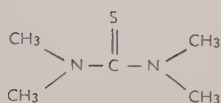
Constitution de thiodérivés organiques de faible poids moléculaire



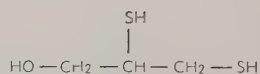
Thio-urée
PM : 76



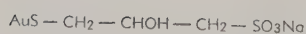
Diméthylthio-urée
PM : 104



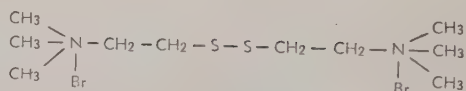
Tétraméthylthio-urée
PM : 132



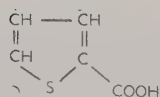
Dimercaprol
PM : 124



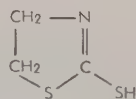
Aurothiopropanolsulfonate de sodium
PM : 390



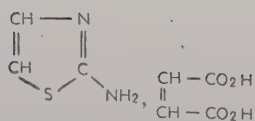
Bromure de dithiocholine
PM : 398



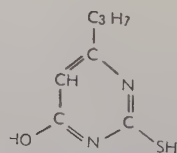
Acide 2-thénoïque
PM : 128



Mercaptothiazoline
PM : 119,2



Amino 2. Thiazole (maléate acide)
PM : 216,2



Propyl-4 Thio-2 Uracyle
PM : 170,2

Dans le deuxième tableau figurent : la thio-urée et ses dérivés N-diméthyl et N-tétraméthyl, le dimercaprol ou BAL *, l'aurothiopropionolsulfonate de sodium (Allochrysine *), le bromure de dithiocholine et quelques dérivés hétérocycliques, acide 2-thénoïque, la mercaptothiazoline, l'amino-2 thiazole (sous forme de maléate acide) et enfin le propylthio-uracyle.

Tous ces composés ont été expérimentés sur la préparation nerf sciatique - muscle tibial antérieur du Lapin.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

CYSTÉINE

Les essais ont été pratiqués avec une solution extemporanée de chlorhydrate de cystéine.

La cystéine (40 mg/kg I.V.) n'a pas d'action sur la contraction maximale du tibial de Lapin, dans un cas nous avons observé une légère contracture fugace. GOFFART et DELLA BELLA [133] ont observé une telle contracture du tibial antérieur du Chat par injection artérielle proche, de 2 mg de cystéine.

Après paralysie de la préparation par la *d*-tubocurarine (*d*-TC), la cystéine (50-100-200 mg/kg) exerce une potentialisation de la curarisation ; celle-ci est faible mais prolongée et semble proportionnelle aux doses administrées.

CYSTÉAMINE

ou β -mercapto-éthylamine

C'est un produit cristallisé, de conservation difficile (à placer sous azote) car hygroscopique et oxydable ; c'est le chaînon terminal actif du co-enzyme A (voir page 118). Il possède des propriétés radioprotectrices (voir Z. M. BACQ [15]).

Sur la contraction du tibial antérieur de Lapin stimulé par voie indirecte, la cystéamine (50 mg/kg i.v.) n'a aucune action. Nous avons utilisé de trop faibles doses pour retrouver les résultats obtenus par GOFFART et DELLA BELLA [133], qui admettent des propriétés curariformes non spécifiques sur le tibial du Chat à de très fortes doses

(400 mg/kg i. v.) : par injection artérielle proche, une dose de 10 mg est active.

Après curarisation, la cystéamine (50 mg/kg) a des effets généralement diphasiques : faible reprise des contractions d'abord, puis recurarisation. La néostigmine, en fin d'expérience, ne conduit qu'à un retour partiel et fugace.

Pour de plus fortes doses de cystéamine (200 mg/kg), on observe une potentialisation immédiate prolongée et non réversible à la néostigmine.

AMINO-ÉTHYL-ISOTHIO-URÉE

L'amino-éthyl-isothio-urée (AEIT) est un composé dont les propriétés radioprotectrices ont été récemment mises en évidence. Il serait plus actif que la cystéamine et de conservation beaucoup plus facile. Nous avons pratiqué nos essais avec le bromhydrate d'AEIT en solutions préparées extemporanément.

Un dérivé voisin, la S-méthyl-isothio-urée a été étudiée par H. RASKOVA [247] qui a mis en évidence des propriétés antagonistes de la curarisation (voir p. 132). Nos expériences montrent au contraire la potentialisation exercée chez le lapin par le dérivé amino-éthyle.

A la dose de 25 mg/kg et de façon constante à 50 mg/kg, l'AEIT potentialise la contraction maximale du tibial antérieur de Lapin ; cette potentialisation n'est pas très importante mais toujours nette.

Si quelques minutes après AEIT (5 à 10 minutes) on administre une dose inactive (100 µg/kg) de *d*-TC, on observe de façon inconstante (trois expériences sur cinq) une curarisation profonde, quelquefois totale de la préparation. Il y a donc potentialisation de l'action curarisante. Au contraire, dans deux autres expériences, des doses inactives répétées de *d*-TC qui auraient dû diminuer ou supprimer les contractions ont été pratiquement sans action.

Par contre, après curarisation légère ou profonde, l'AEIT (25-50 ou même 150 mg/kg) produit de façon constante une nouvelle diminution de l'amplitude des contractions, généralement prolongée et toujours réversible par la néostigmine.

TAURINE

acide amino-2 éthylsulfonique-I.

La taurine, après action de la *d*-tubocurarine, exerce une légère recurarisation : celle-ci est faible avec une dose de 50 mg/kg mais un peu plus marquée après administration de 100 mg/kg par voie veineuse.

HOMOCYSTÉINE

Aux faibles doses (20 mg/kg) l'homocystéine ne modifie pas la curarisation par la *d*-TC : ce n'est qu'à partir de 100 mg/kg que l'on peut observer une faible potentialisation réversible à la néostigmine.

MÉTHIONINE

Nous avons utilisé le dérivé racémique.

A la dose de 20 mg/kg, la méthionine est sans action sur la contraction maximale et sur la curarisation.

A plus forte dose (100 mg/kg), on observe une potentialisation de la curarisation faible, fugace et réversible à la néostigmine.

ACÉTYLMÉTHIONINE

Contrairement à l'acide-amino, l'acétylméthionine est active à plus faible dose : en effet à 20 mg/kg, on observe une potentialisation de la curarisation très nette : si après *d*-TC, l'amplitude des contractions est réduite de 80 p. 100, la potentialisation la diminue encore jusqu'à 95 p. 100.

A plus forte dose (100 - 200 mg/kg), l'action de l'acétylméthionine sur la curarisation est encore plus marquée.

HYDANTOÏNE DE LA MÉTHIONINE

L'hydantoïne de la méthionine n'exerce aucune action sur la contraction maximale (100 - 200 mg/kg).

Administrée après le curarisant, elle exerce une potentialisation de la curarisation : le phénomène exige des doses de 100 et même 200 mg/kg.

Administrée avant, nous n'avons pas pu observer cette potentialisation.

THIO-URÉE ET DÉRIVÉS N-MÉTHYLÉS

DHELEMMES [94] a montré pour la thio-urée un pouvoir inhibiteur de la pseudo-cholinestérase du sérum humain.

H. RASKOVA et coll. [246-247] ont mis en évidence sur le dérivé S-méthylé de la thio-urée des propriétés anticurarisantes en utilisant le

diaphragme de Rat, le gastrocnémien du Chat et la méthode de la chute de la tête du Lapin.

Les dérivés N-méthylés semblent se comporter différemment. Ces composés sont pratiquement sans action à des doses allant de 10 à 200 mg/kg. Dans un cas, nous avons observé avec le dérivé diméthyl une stabilisation de la reprise spontanée après paralysie par la *d*-TC ; au contraire pour le dérivé tétraméthyle une très légère reprise des contractions, mais les effets sont minimes et inconstants.

DIMERCAPROL

(B.A.L.*) OX 2A ou 2-3-dimercaptopropanol.

Le B.A.L. (1) est sans action sur la contraction maximale du tibial antérieur.

Après curarisation, il provoque une diminution supplémentaire de l'amplitude des contractions, pour des doses de 10 à 50 mg/kg. Cette potentialisation n'est pas très profonde, mais prolongée. Elle paraît s'exercer par administration de dimercaprol avant la *d*-TC. Le retour des contractions à leur amplitude d'origine par l'édrophonium est parfois difficile : est-ce une atteinte de la jonction myoneurale ? Est-ce une action du dimercaprol ? Nous n'avons pas d'arguments formels en faveur de l'une ou l'autre de ces possibilités, mais dans plusieurs expériences où nous n'avons pas utilisé l'édrophonium, les contractions ont repris spontanément leur amplitude d'origine.

Cette potentialisation s'est exercée également chez le Lapin vis-à-vis du 336 HC, du 606 HC et de C₁₀.

AUROTHIOPROPANOLSULFONATE DE SODIUM

(ALLOCHRYSSINE *)

Ce composé, que l'on peut rapprocher par sa chaîne carbonée et sa fonction thiol du dimercaprol, est beaucoup moins actif que ce dernier sur la curarisation. Des doses de 50, 100 mg/kg ne provoquent qu'une légère potentialisation de celle-ci.

BROMURE DE DITHIOCHOLINE

1° *Sur la préparation neuromusculaire du Lapin :*

La dithiocholine à la dose de 50 mg/kg présente des propriétés curarisantes réversibles à la néostigmine.

Après curarisation par la *d*-TC, les phénomènes sont plus complexes ;

(1) Nous avons utilisé du B.A.L. fraîchement redistillé et conservé en glacière, en solution extemporanée.

pour les faibles doses (10 - 20 mg/kg) on observe un antagonisme toujours partiel, quelquefois fugace ; une deuxième ou une troisième dose identique de dithiocholine conduit généralement à une recurarisation. La néostigmine capable d'antagoniser la *d*-TC et la dithiocholine, ne présente qu'un antagonisme partiel après action simultanée de ces deux dernières substances.

Pour les doses plus fortes (100 mg/kg) : on observe d'emblée une recurarisation plus ou moins prononcée.

Cette action complexe doit provenir du fait que le Lapin n'a pas de réactions pures vis-à-vis de substances du type acétylcholinomimétique ou du type mixte (voir p. 51) ; nous avons donc utilisé la préparation neuromusculaire du Chat.

2° *Sur la préparation sciatique-tibial antérieur, soléaire du Chat*, la dithiocholine à la dose de 5 mg/kg produit une paralysie typique des acétylcholinomimétiques avec contracture fugace et action prolongée plus marquée sur le tibial antérieur que sur le soléaire.

D'autre part, la dithiocholine (5 mg/kg) entraîne une recurarisation prolongée quand on l'administre après paralysie partielle de la préparation par la succinylcholine.

Par contre, après *d*-TC, la dithiocholine (5 mg/kg) conduit à une reprise des contractions surtout nette sur le tibial antérieur. Cette action s'explique facilement par l'antagonisme réciproque observé entre les deux types de curarisants.

ACIDE 2-THÉNOÏQUE

ou acide thiophène caboxylique-2.

L'acide 2-thénoïque, peu soluble dans l'eau, est employé sous forme de sel de sodium préparé extemporanément par neutralisation jusqu'à pH 7.

L'acide 2-thénoïque, à la dose de 50 mg/kg, n'a aucune action sur la contraction maximale du tibial antérieur du Lapin.

Après curarisation par la *d*-TC, il provoque (40 ou 50 mg/kg) une diminution supplémentaire de l'amplitude des contractions. Cette potentialisation est profonde, prolongée, mais réversible totalement par la néostigmine, quelquefois plus difficilement par l'édrophonium.

Par administration avant le curarisant, cette action est plus faible et, inconstante.

MERCAPTOTHIAZOLINE

C'est un composé pratiquement inactif sur la curarisation aux doses non toxiques. A 40 mg/kg aucun effet, à 100 mg/kg, on observe une légère reprise des contractions, lente et peu durable ; cette dernière dose est à la limite de la dose toxique.

AMINO-2 THIAZOLE (maléate acide) (ABADOL *)

Comme le composé précédent, l'amino-2 thiazole est pratiquement inactif sur la curarisation aux doses de 5, 20, 50 mg/kg. A la dose de 100 mg/kg, on observe une légère recurarisation.

PROPYLTHIO-URACYLE

Utilisé sous la forme d'une solution saturée de propyl-4-thio-2 uracyle.

Sans action sur la curarisation, à des doses de 20 mg/kg, le propyl-thio-uracyle conduit à plus fortes doses, 50 mg/kg, à une légère recurarisation réversible à la néostigmine.

DISCUSSION DES RESULTATS ESSAI D'INTERPRETATION

Les Tableaux IV et V rassemblent à côté des caractéristiques physico-chimiques et pharmacologiques, les effets qu'exercent les quelques thio-dérivés étudiés, sur l'action curarisante de la *d*-TC.

1° GROUPE DE LA CYSTEINE :

Il comprend la cystéine, la cystéamine, l'amino-éthyl-isothio-urée (AEIT), l'homocystéine, la taurine ; ces molécules sont caractérisées par le groupement $\text{NH}_2\text{—}\overset{\text{I}}{\text{CH}}\text{—CH}_2\text{—S—}$ avec un chaîon $\text{—CH}_2\text{—}$ supplémentaire dans le cas de l'homocystéine.

a) ACTION PROPRE SUR LA TRANSMISSION NEUROMUSCULAIRE :

Seule dans ce groupe, AEIT agit sur les processus de la transmission, en potentialisant la contraction maximale indirecte faiblement mais de façon constante pour des doses de l'ordre de 50 mg/kg. Comme cette action n'est pas retrouvée chez les molécules voisines, le groupement isothio-urée doit y jouer un rôle important. Quel peut être le mécanisme de cette potentialisation ?

- augmentation de la biosynthèse de l'acétylcholine,
- action anticholinestérasique protégeant l'acétylcholine,
- augmentation de l'excitabilité musculaire avec diminution de la période réfractaire.

TABLEAU IV
Rapport Constitution - Action de quelques acides aminés soufrés et dérivés

	P. M.	Fonction soufrée	Autres fonctions	Propriétés pharmacologiques	Action sur la curarisation
Cystéine	121	—SH	—CH(NH ₂)—COOH		Potentialisation faible et prolongée
Cystéamine	77	—SH	—NH ₂	Radioprotecteur	Potentialisation faible et prolongée difficilement réversible à la Néostigmine
A.E.I.T.	199	—S—C(NH)NH ₂	—NH ₂	Radioprotecteur potentialise la contraction maximale	Potentialisation marquée
Taurine	125	—SO ₃ H	—NH ₂		Potentialisation très faible
Homocystéine	135	—SH	—CH(NH ₂)—COOH		— id. —
Méthionine	149	—S—CH ₃	—CH(NH ₂)—COOH	Facteur lipotrope	Potentialisation très faible
Acétylméthionine ...	191	—S—CH ₃	—CH—COOH NHCOCH ₃	— id. —	Potentialisation marquée
Hydantoïne de la Méthionine	174	—S—CH ₃	NH—CO —CH—CO—NH		Potentialisation faible

TABLEAU V
Rapport Constitution - Action de quelques thiodérivés de faible poids moléculaire

	P. M.	Fonction soufrée	Autres fonctions	Propriétés pharmacologiques	Action sur la curarisation
Thio-Urée	76	$S = C(NH_2)_2$		Antithyroïdien	Aucune action
Diméthylthiourée ...	104	$S = C(NH-R)_2$	N. méthyl		Aucune action
Tétraméthylthiourée.	132	$S = (NR_2)_2$	N. diméthyl		Aucune action
Dimercaprol	124	2 fonctions —SH	—OH	Antidote de As	Potentialisation faible mais prolongée
Aurothiopropionol-sulfonate de sodium.	390	—SAu —SO ₃ Na		Antituberculeux	Potentialisation très faible
Bre Dithiocholine ...	398	—S—S—	2 fonctions ammonium quaternaire	Lipotrope	Antagonisme
Acide 2 thénioïque ...	128	—S— (thiophénique)	—COOH		Potentialisation marquée et prolongée
Mercaptothiazoline .	119	—S— (thiazolinique)—SH		Antithyroïdien	Pratiquement sans action
Amino 2 thiazole ...	216	—S— (thiazolique)	—NH ₂	Antithyroïdien	— id. —
Propylthio-uracyle ...		—SH	uracyle	Antithyroïdien	Potentialisation très faible

Nos résultats expérimentaux ne nous permettent pas de trancher de façon formelle.

Nous avons retrouvé dans une de nos expériences, la contracture par la cystéine que GOFFART et DELLA BELLA [133] ont observée chez le Chat après injection artérielle proche. Cette contracture a été observée sur un muscle déjà curarisé ; elle ne semble donc pas intéresser la plaque motrice mais la fibre musculaire elle-même ; ceci confirme l'hypothèse que proposent ces derniers auteurs, d'une action nicotinique.

L'action « curariforme » des fortes doses (400 mg/kg) de cystéamine décrite par GOFFART et DELLA BELLA [133] chez le Chat n'a pas été retrouvée lors de nos expériences ; ceci est explicable par le fait que nous avons employé des doses plus faibles et une espèce animale différente (Lapin). On peut constater que la décarboxylation de la cystéine entraîne la suppression de ses effets contracturants.

b) ACTION SUR LA CURARISATION :

Les cinq composés du groupe de la cystéine potentialisent la curarisation ; l'activité varie d'un composé à l'autre : si l'AEIT est le plus actif, la cystéine et la cystéamine le sont moins ; la taurine et l'homocystéine très faiblement.

L'AEIT potentialise de façon constante les effets de la *d*-TC quand elle est administrée après le curarisant ; si l'ordre d'administration est inversé, les résultats sont inconstants. Nous avons quelquefois constaté cette différence d'activité ⁽¹⁾ sans lui avoir trouvé une explication satisfaisante :

— il est difficile de faire intervenir des variations de sensibilité de certains lapins à la *d*-TC ; nous avons observé quelquefois des animaux particulièrement peu sensibles mais rarement ;

— il faut plutôt admettre que ces modificateurs de la curarisation dont l'action ne semble pas d'une grande spécificité ni d'une durée prolongée, agissent plus facilement et plus profondément sur des molécules de curarisant déjà en place ou sur une jonction neuromusculaire déjà fortement déprimée donc plus sensible ⁽²⁾ ;

— dans le cas précis de l'AEIT, les effets potentialisateurs de la contraction maximale paraissent en opposition avec les effets potentialisateurs de la curarisation ; en effet, les premiers vont dans le sens d'une facilitation de la contraction, les seconds dans le sens d'une inhibition de cette même contraction. Il faut donc admettre deux mécanismes

(1) Voir acide 2 thénoïque p. 125, noprilsulfamide p. 145, chlorothiazide p. 147.

(2) Voir à ce propos la discussion des protocoles expérimentaux dans la 2^e partie de notre travail, p. 91.

différents susceptibles de s'opposer sur une préparation neuromusculaire intacte, mais seul le deuxième serait capable d'agir sur une préparation curarisée.

Un phénomène particulier, rarement observé lors de notre expérimentation, plaide en faveur d'un double mécanisme d'action : lors du retour spontané ou provoqué (par la néostigmine par exemple) des contractions musculaires après potentialisation de la curarisation par l'AEIT, le niveau atteint est généralement plus élevé que le niveau d'origine. Le mécanisme « facilitant » la contraction est donc caché pendant la potentialisation de la curarisation, mais il réapparaît dès que toute trace de curarisation a disparu.

L'existence de ce double mécanisme d'action est donc capable d'expliquer l'inconstance de nos résultats quand l'AEIT est administré avant la *d*-TC.

La cystéine et la cystéamine se différencient nettement de l'AEIT : la potentialisation de la *d*-TC qu'elles provoquent est beaucoup moins profonde mais plus prolongée. Dans le cas de la cystéamine, le phénomène prend, aux plus faibles doses, un aspect particulier : la recurarisation est généralement précédée d'une très légère et fugace reprise des contractions ; aux fortes doses cette première phase disparaît, mais la potentialisation est prolongée et difficilement réversible : la néostigmine n'est plus capable d'assurer un retour des contractions, mettant ainsi en évidence une atteinte profonde des processus de transmission ou de contraction.

La taurine, dans laquelle la fonction —SH de la cystéamine est remplacée par un groupement $\text{—SO}_3\text{H}$, est beaucoup moins active que cette dernière. La comparaison de l'activité de ces deux molécules permet de montrer l'importance que présente la fonction —SH .

L'homocystéine potentialise beaucoup moins la *d*-TC que son homologue inférieur ; il apparaît donc, que les molécules à deux atomes de carbone sont, dans le groupe de molécules étudiées, les plus favorables.

Ces actions particulières des molécules à deux atomes de carbone pourraient être liées à la présence dans la partie terminale active du co-enzyme A, d'un chaînon semblable, la β -mercapto-éthylamine ou cystéamine. NACHMANSOHN et JOHN [221] puis LIPMANN et KAPLAN [204] signalent les propriétés activatrices de cet enzyme exercées par la cystéine. L'activation du co-enzyme A, c'est-à-dire de la biosynthèse de l'acétylcholine constitue-t-elle une explication acceptable des résultats que nous avons obtenus ?

Elle ne peut expliquer la potentialisation des effets curarisants, car elle tendrait au contraire à s'opposer à ceux-ci.

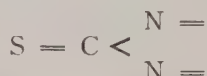
On ne pourrait la faire intervenir dans la contracture observée avec

que la *l*-méthionine et la *l*-cystéine présentent une activité comparable aux autres acides aminés naturels. Chez les myasthéniques, une perfusion d'amino-acides ou d'hydrolysats de protéine améliore temporairement certains symptômes de la maladie (potentiel d'action musculaire ramené à un chiffre normal). Expérimentalement la déficience en certains acides aminés produit une atteinte musculaire (diminution du potentiel d'action musculaire), mais celle-ci est très faible dans le cas de déficiences en méthionine.

Il est donc permis de conclure que le rôle de cet acide aminé sur le fonctionnement neuromusculaire est de faible importance.

3° GROUPE DE LA THIO-UREE :

Il comprend la thio-urée, la N-diméthylthio-urée et la N-tétraméthylthio-urée. Ces molécules sont caractérisées par le groupement



Aucune ne modifie l'action curarisante de la *d*-TC. De très faibles actions ont été observées aux fortes doses (50 - 100 mg/kg) mais elles ne peuvent prêter à généralisation : la diméthylthio-urée arrêterait la reprise spontanée des contractions après curarisation, alors que la tétraméthylthio-urée faciliterait au contraire cette reprise.

On constate que contrairement aux dérivés S substitués actifs, les dérivés N substitués n'exercent aucun effet marqué. En effet, le dérivé S-aminoéthyl n'est autre que AEIT dont nous avons vu (p. 122) la double action de potentialisation de la contraction maximale et de la curarisation ; le dérivé S-méthyl est antagoniste de la *d*-TC sur les préparations nerf phrénique-diaphragme de Rat, nerf sciatique gastrocnémien de Chat et sur le test de la chute de la tête du Lapin (RASKOVA et coll. [247]) (1). Il est sans effet sur la contracture acétylcholinique du *rectus abdominis* de Grenouille mais potentialise la contraction maximale du diaphragme de Rat (2) ; son homologue S-benzylé déprime au contraire la contraction maximale de cette dernière préparation neuromusculaire (RASKOVA et coll. [246]) (3).

(1) Nous avons confirmé les propriétés anticurares de la S-méthylthio-urée (sulfate) sur la préparation nerf sciatique-tibial antérieur de Lapin : injectée au moment de la reprise spontanée d'une curarisation par la *d*-TC, la S-méthylthio-urée (50 ou 100 mg/kg) est capable de rétablir l'amplitude des contractions non seulement au niveau d'origine mais encore à un niveau supérieur.

(2) Nous avons retrouvé sur la préparation neuromusculaire *in situ* du Lapin cette potentialisation de la contraction maximale : elle est très importante (66 à 100 p. cent), très prolongée (durée quelquefois supérieure à 2 h. 30) mais ne semble pas proportionnelle aux doses administrées ; dans deux expériences, l'animal est mort 15 minutes et 1 heure après l'injection de doses relativement faibles de S-méthylthio-urée (10 et 20 mg/kg).

(3) Sur la préparation neuromusculaire *in situ* du Lapin, nous avons constaté

DHELLEMMES [94] admet pour la thio-urée des propriétés inhibitrices de la pseudocholinestérase du sérum humain ; AMBRUS et coll. [5] ont vérifié ce pouvoir inhibiteur sur les cholinestérases du sérum et des organes.

GROSSMANN et KASALICKY [137] ont confirmé les propriétés antagonistes de la S-méthylisothio-urée sur le diaphragme de Rat et la chute de la tête et ont constaté avec ce dérivé une activation de la cholinestérase des globules.

Enfin, J. CHEYMOL et coll. [74] ont montré l'action curarisante vraie — de type compétitif — de disulfoniurns dérivés de la thio-urée ; dans cette série de molécules, la N-méthylation ne modifie, d'aucune façon, l'activité curarisante.

Quelles conclusions pouvons-nous tirer de cet ensemble de faits ?

La thio-urée est pratiquement inactive malgré un pouvoir inhibiteur de la cholinestérase qui laisserait prévoir des effets antagonistes de la *d*-TC. Sa N-substitution (dérivés de la thio-urée) n'apporte — dans le domaine limité du fonctionnement neuromusculaire — aucune activité particulière.

Par contre, la S-substitution (dérivés de l'isothio-urée) conduit à des propriétés variant en fonction du radical substituant.

Le dérivé S-méthyl pourrait agir en activant la biosynthèse de l'acétylcholine ; cette activation expliquerait les divers résultats expérimentaux observés par RASKOVA et coll. [247] et confirmés par nous-même : antagonisme de la *d*-TC, aucun effet sur la contracture acétylcholinique du *rectus abdominis* et potentialisation de la contraction maximale. L'activation de la cholinestérase des globules obtenues par GROSSMANN et KASALICKY *in vitro* [137] ne constitue pas un argument contre notre hypothèse : un même produit peut activer différents enzymes, surtout si ces enzymes sont les biocatalyseurs de réactions opposées réversibles.

Le dérivé S-amino-éthyle pourrait présenter ces mêmes propriétés activatrices de la biosynthèse d'acétylcholine ; ceci permettrait d'expliquer la potentialisation de la contraction maximale que nous avons observée de façon constante. Toutefois, nous sommes obligés d'admettre une seconde propriété, se surajoutant à la première et produisant une potentialisation des effets du curare : s'exerce-t-elle au niveau de la plaque, au niveau des fibres musculaires ou encore sur des récepteurs aspéci-

avec la S-benzylthio-urée (20 mg/kg) une potentialisation de la contraction maximale, faible mais prolongée.

Après curarisation partielle, la S-benzylthio-urée augmente la profondeur de la curarisation faiblement mais de façon prolongée.

Sur le Lapin, les effets du dérivé S-benzyl se rapprochent donc de ceux du dérivé S-aminoéthyl (AEIT).

fiques ⁽¹⁾ ? Il nous est impossible de la localiser. Elle est constante seulement sur une préparation neuromusculaire déjà curarisée, donc déprimée de réactivité différente d'une préparation intacte.

Le dérivé S-benzylé exerce une potentialisation de la contraction maximale sur le Lapin, une action dépressive curarisante ou simplement curariforme sur le diaphragme de Rat. Son mode d'action pourrait se rapprocher de celui du dérivé précédent.

Les disulfoniums ou S-polyméthylène di-isothio-urée sont nettement curarimimétiques : cette propriété s'explique par l'analogie avec les diammoniums.

On constate donc dans cette série de composés S-substitués une évolution graduelle d'action potentialisante de la contraction maximale à une action curarisante compétitive.

4° GROUPE DES THIO-DERIVES ACYCLIQUES :

Il comprend le dimercaprol, l'aurothio-propanol sulfonate de sodium et le bromure de dithiocholine.

Les molécules de ce groupe sont caractérisées par les fonctions —SH, SAu et —S—S— fixées sur une chaîne linéaire.

La dithiocholine se singularise par la présence de deux fonctions triméthylammoniums, entraînant des propriétés particulières au niveau de la plaque motrice. La dithiocholine est un paralysant du type acétylcholinomimétique, capable par conséquent d'antagoniser à doses convenablement choisies, les effets curarisants de la *d*-TC ⁽²⁾. Cet antagonisme s'observe le plus facilement sur le Chat dont les réactions aux acétylcholinomimétiques sont les plus pures, alors que chez le Lapin, celles-ci sont variables et complexes ⁽³⁾. Le fait que le soléaire du Chat réponde parfois moins bien à l'antagonisme par la dithiocholine n'est pas étonnant : nous avons vu ⁽⁴⁾, en effet, que ce muscle ne réagit pas toujours de façon aussi pure que le tibial aux effets d'un acétylcholinomimétique.

Les deux autres molécules possèdent une même chaîne carbonée, une fonction alcool, et deux atomes de soufre : dans un cas deux fonctions —SH, dans l'autre une fonction —SAu et une fonction —SO₃H. Toutes deux potentialisent les effets de la *d*-TC.

Le dimercaprol est le plus actif, le plus toxique pour la préparation : son action — généralement prolongée — s'exerce aussi bien vis-à-vis

(1) Nous faisons allusion à une explication possible de la potentialisation exercée par les sulfamides et certains colorants (voir plus loin, p. 154 et p. 237).

(2) Voir p. 45 l'antagonisme réciproque des deux types de paralysants neuromusculaires.

(3) Voir p. 46 et p. 66.

(4) Voir p. 51.

des curarimimétiques que des acétylcholinomimétiques. Ce dernier caractère nous permet de conclure que le dimercaprol ne doit pas agir au niveau des terminaisons nerveuses motrices et encore moins au niveau de la plaque motrice, mais vraisemblablement sur la fibre musculaire elle-même.

L'aurothiopropanol sulfonate de sodium n'agit que très faiblement et ne provoque pas d'atteinte irréversible à la jonction neuromusculaire. Même en tenant compte du rapport des poids moléculaires (1/3,14) le dimercaprol présente une plus grande activité. Il faut admettre que le blocage par un atome d'or diminue l'activité des fonctions —SH dans l'organisme, ou bien que la fonction —SO₃H très hydrophile, rend la molécule plus mobile.

5° GROUPE DES THIODERIVES HETEROCYCLIQUES :

Il comprend l'acide 2-thénoïque, la mercaptothiazoline, le maléate acide de l'amino-thiazole et le propyl-4 thio-2 uracyle.

Trois de ces dérivés présentent un atome de soufre dans leur cycle et de plus la mercaptothiazoline présente une fonction —SH extracyclique. Le quatrième — le propylthio-uracyle — ne possède qu'un atome de soufre extracyclique.

Seul l'acide 2-thénoïque potentialise les effets de la *d*-TC ; cette action très marquée, est généralement prolongée, mais facilement réversible.

Les trois autres composés — tous trois antithyroïdiens — sont soit sans action, soit très faiblement actifs. Si on tente de rapporter cette inactivité à une structure moléculaire, on peut dire que le groupement antithyroïdien = $\text{N} \rightarrow \underset{\text{S}}{\underset{\parallel}{\text{C}}} - \text{X}$ paraît défavorable à une action au niveau

de la jonction neuromusculaire. Plusieurs auteurs, pourtant, ont mis en évidence les propriétés anticholinestérasiques de quelques antithyroïdiens.

G. DHELLEMMES [94] observe pour l'aminothiazole un pouvoir inhibiteur de la pseudocholinestérase du sérum.

G. AMBRUS et G. AMBRUS [5] montrent que l'activité cholinestérasique augmente chez l'Homme dans l'hyperthyroïdisme. Lors d'un traitement antithyroïdien par le thio-uracyle et ses dérivés, les auteurs constatent un abaissement de la cholinestérase. Expérimentalement, une injection de tyrosine au Lapin augmente l'activité de cet enzyme, tandis qu'*in vitro* l'activité cholinestérasique du sérum et des organes est inhibée par des antithyroïdiens (thio-urée, thio-uracyle et méthylthio-uracyle).

Ceci confirme, par conséquent, que les propriétés inhibitrices de la cholinestérase d'une substance donnée doivent être très marquées pour que celle-ci soit capable d'antagoniser les effets d'une molécule curarisante.

CONCLUSIONS

L'étude comparative des modifications de la curarisation qu'exercent 18 composés soufrés organiques de faible poids moléculaire, nous permet de tirer les conclusions suivantes :

INFLUENCE DU POIDS MOLÉCULAIRE :

Leur poids moléculaire s'échelonne de 77 à 199 si on fait exception de deux corps, aurothiopropanol sulfonate de sodium (390) et bromure de dithiocholine (398), dont les poids moléculaires plus élevés sont dus à la présence d'atomes particulièrement lourds, respectivement l'or et le brome. Il n'est pas possible dans cette série de composés d'admettre que le faible encombrement moléculaire entraîne dans l'organisme une action rapide et fugace ; en effet, certains présentent des effets potentialisateurs de la *d*-TC prolongés (cystéine, cystéamine, dimercaprol, acide thénioïque), alors que les autres sont soit d'activité rapide (AEIT., acétylméthionine) ou faible (taurine, homocystéine, méthionine et son hydantoïne, aurothiopropanol sulfonate de sodium), soit inactifs ou presque (thio-urée et ses dérivés N-diméthyle et tétraméthyle, mercaptothiazoline, aminothiazole, propylthio-uracyle). Le bromure de dithiocholine enfin présente des propriétés paralysantes de type acétylcholinométique et de ce fait antagonise la *d*-TC.

CHAÎNON SOUFRÉ A DEUX ATOMES DE CARBONE :

La présence du radical $\text{NH}_2 - \overset{\overset{|}{\text{C}}}{\text{---}} \text{CH}_2 - \text{S} -$ paraît favoriser une potentialisation de la *d*-TC, soit très marquée (amino-éthylisothio-urée), soit faible mais prolongée (cystéine, cystéamine). Nous rapprochons ces faits de l'existence dans le co-enzyme A participant à la synthèse de l'acétylcholine, d'un chaînon terminal β -mercapto-éthylamine, sans toutefois émettre une hypothèse sur une relation de cause à effet.

FONCTION THIOL :

Certains composés porteurs d'une ou plusieurs fonctions $-\text{SH}$ (cystéine, cystéamine, dimercaprol) potentialisent la *d*-TC de façon faible mais prolongée. Une répétition de leurs effets semble conduire à un « empoisonnement » (1) de la préparation expérimentale qui ne récu-

(1) L'emploi de ce terme très indéfini est motivé par la méconnaissance où nous sommes du point d'attaque de ces composés : terminaisons nerveuses motrices, plaque motrice ou fibre musculaire.

Bailey [16] a montré l'interaction des groupements $-\text{SH}$ avec l'actine et la myosine dans les mécanismes de la contraction du muscle.

père que très difficilement son fonctionnement d'origine soit spontanément, soit par les antagonistes classiquement connus (néostigmine).

La transformation en $\text{—SO}_3\text{H}$ ou le blocage par un métal de ces fonctions thiol (taurine, aurothiopropanol sulfonate) suppriment presque totalement l'effet potentialisateur prolongé. Ceci peut constituer un argument en faveur de l'influence de ces fonctions —SH .

FONCTION ACIDE AMINÉ SOUFRÉ :

Seule la cystéine parmi les trois acides aminés soufrés étudiés modifie l'action de la *d*-TC. Son homologue, l'homocystéine et la méthionine ont une action potentialisatrice très faible. Le blocage de la fonction amino-acide de la méthionine sous forme d'hydantoïne, ne change pas l'aspect et l'intensité de cette action. Par contre, l'amidification de la fonction —NH_2 par l'acide acétique entraîne des propriétés potentialisatrices marquées : celles-ci sont différentes de ce qu'on observe avec la cystéine : potentialisation profonde relativement peu prolongée et toujours réversible. L'acétylméthionine agit-elle comme les sulfamides ⁽¹⁾ ou bien faut-il faire intervenir l'exaltation de la fonction acide que provoque l'amidification ? Ce caractère acide peut peut-être influencer une éventuelle fixation de l'acétylméthionine sur les protéines.

FONCTION THIO-URÉE :

La thio-urée et ses dérivés N-diméthyl et N-tétraméthyl n'ont aucune action sur les effets paralysants de la *d*-TC.

Au contraire, le dérivé S-amino-éthyle potentialise à la fois la contraction maximale de la préparation neuromusculaire du Lapin et les effets curarisants de la *d*-TC.

L'activité constatée avec ce dérivé de l'isothio-urée est à rapprocher des observations d'autres auteurs sur la S-méthyle et S-benzyle-thio-urée, observations que nous avons confirmées. Il est donc permis d'admettre une activité des dérivés de l'isothio-urée (S-substitués), alors que les dérivés de la thio-urée (N-substitués) sont sans action.

GROUPEMENT ANTITHYROÏDIEN :

Les molécules douées de propriétés antithyroïdiennes présentant le groupement $\text{—N—}\overset{\text{C}}{\underset{\text{S}}{\parallel}}\text{—X}$, dont nous avons étudié les effets sur la

(1) Voir p. 152.

curarisation (mercaptothiazoline, amino-thiazole, propylthio-uracyle et dérivés de la thio-urée) se sont montré pratiquement sans action.

Cette inactivité ne peut être liée à la présence d'un hétérocycle, car l'acide thiophène 2-carboxylique est capable de potentialiser de façon marquée les effets de la *d*-TC.

L'étude des modifications apportées aux effets de la *d*-TC par quelques acides aminés soufrés et de leurs dérivés et quelques thiodérivés organiques de faible poids moléculaire, ne permet pas de conclure à une action élective de l'atome de soufre. Toutefois, la fonction sulfhydryle paraît jouer dans le domaine neuromusculaire un rôle particulier.

CHAPITRE III

SULFAMIDES et COMPOSES VOISINS

INTRODUCTION.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX :

- Acide sulfanilique.
- Sulfanilamide.
- Naphtazosulfamide.
- Sulfathio-urée soluble.
- Noprylsulfamide.
- Phénopryldiasulfone.
- Acétazolamide.
- Chlorothiazide.
- Probenecid.
- Glybuthiazol.
- Saccharine.

DISCUSSION DES RÉSULTATS :

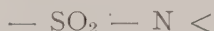
- 1° Différences qualitatives.
- 2° Différences quantitatives.

ESSAI D'INTERPRÉTATION :

- 1° Caractère acide.
- 2° Inhibition enzymatique.
- 3° Fixation sur les protéines plasmatiques.
- 4° Différences quantitatives et qualitatives.

CONCLUSIONS.

L'intérêt des sulfamides qui fût grand au début de leur emploi comme antibiotiques, avait quelque peu diminué, mais la découverte de nouveaux dérivés vient de remettre en valeur cette série pharmacologique : en effet, trois grandes propriétés supplémentaires peuvent maintenant être liées à la fonction chimique fondamentale sulfamide :



- Inhibition des fonctions tubulaires.
- Inhibition de l'anhydrase carbonique.
- Action hypoglycémiante.

Une importante revue du Professeur R. HAZARD et de P. PIGNARD [152] leur a été récemment consacrée.

Pour étudier les modifications que peut apporter la fonction sulfamide à la curarisation ⁽¹⁾, nous avons choisi parmi les nombreux composés connus, un ou plusieurs représentants de chaque propriété :

- parmi les antibiotiques : le sulfanilamide, le naphthazosulfamide, le noprilsulfamide et la sulfathio-urée soluble ;
- parmi les inhibiteurs de la fonction tubulaire : le probénécid ;
- parmi les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique : l'acétazolamide, le chlorothiazide ⁽²⁾ ;
- parmi les hypoglycémiants : le glybuthiazol.

Enfin, trois composés peuvent être rattachés au groupe des sulfamides :

- l'acide sulfanilique : acide correspondant au sulfanilamide ;
- la phénolpryldiasulfone sodique : sulfone correspondant au noprilsulfamide ;
- la saccharine ou imide sulfobenzoïque.

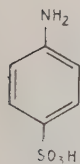
La constitution de tous ces corps est donnée dans le Tableau VI.

(1) Toutes les expériences ont été faites sur le Lapin : préparation neuromusculaire sciatique-tibial antérieur du Lapin ou animal entier éveillé pour la chute de la tête.

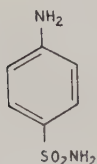
(2) Ce composé est un inhibiteur relativement faible de l'anhydrase carbonique. Son action diurétique comporterait un second mécanisme voisin de celui des organo-mercuriels.

TABLEAU VI

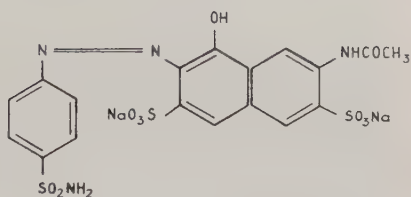
Constitution des sulfamides et dérivés voisins étudiés



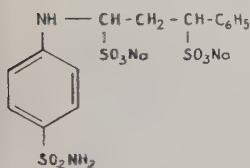
Acide sulfanilique
PM : 173



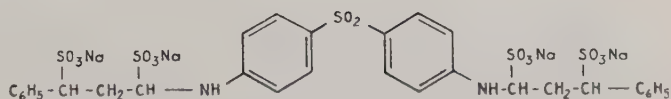
Sulfanilamide
PM : 172,2



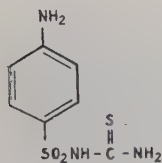
Naphtazosulfamide ou Rubiazol II*
PM : 335,3



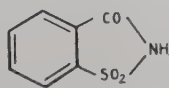
Noprylsulfamide
PM : 494,5



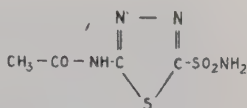
Phénopryldiasulfone sodique
PM : 965



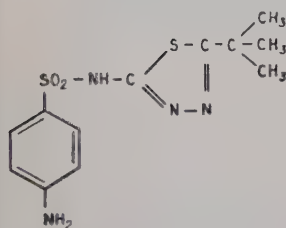
Sulfathiourée (soluble)
PM : 231,2



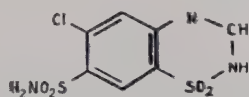
Saccharine
PM : 183,2



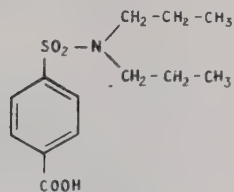
Acétazolamide
PM : 222



Glythiazol
PM : 312,4



Chlorothiazide
PM : 295,7



Probenécid
PM : 285

RESULTATS EXPERIMENTAUX (1)

ACIDE SULFANILIQUE

ou acide para-amino-benzène sulfonique.

L'acide sulfanilique a été déjà étudié par KENSLEY [172] sur la Grenouille ; il ne lui trouve aucune activité. BRÜCKE et coll. [41], sur une préparation neuromusculaire (gastrocnémien de Rat), concluent à une légère action antagoniste vis-à-vis de la *d*-tubocurarine (*d*-TC) comme du décaméthonium, ou du 606 H.C. à des doses répétées de l'ordre de 12 mg/100 g.

Nous avons pratiqué un essai semblable sur la préparation sciatique-tibial antérieur de Lapin (l'acide sulfanilique a été neutralisé avant l'injection). Même à fortes doses (150 mg/kg) l'acide sulfanilique n'a aucune action sur la transmission neuromusculaire.

Par contre, administré avant ou après *d*-TC, il produit une potentialisation de la curarisation. Légère aux faibles doses (5 - 10 mg/kg) elle est proportionnellement plus marquée quand celles-ci sont augmentées (100 - 150 mg/kg).

La néostigmine est capable de faire reprendre aux contractions leur amplitude d'origine, donnant la preuve de l'intégrité de la préparation (fig. 24).

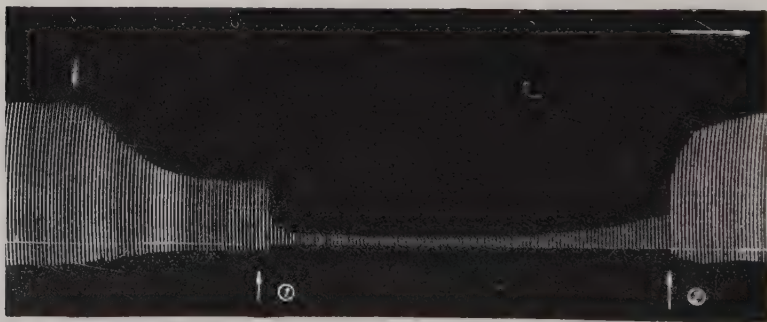


FIGURE 24.

Potentialisation de la d-tubocurarine par l'acide sulfanilique sur la préparation nerf sciatique - muscle tibial antérieur du Lapin.

En (↓)	au temps $t = 0$: <i>d</i> -tubocurarine	350 μ g/kg
En (↑ ₁)	à $t + 8$ min. : ac. sulfanilique neutr.	150 mg/kg
En (↑ ₂)	à $t + 25$ min. : néostigmine	100 μ g/kg

(Cliché réduit aux 3/4)

(1) Déjà partiellement publiés [64].

L'acide sulfanilique paraît donc se comporter différemment sur la Grenouille (pas d'action), sur le Rat (antagonisme) et sur le Lapin (potentialisation).

SULFANILAMIDE

ou para-amino-benzène sulfonamide.

Le sulfanilamide est relativement peu soluble dans l'eau, nous l'avons utilisé en solution aqueuse proche de la saturation (7 mg/ml).

Le sulfanilamide à la dose de 25 mg/kg ne modifie pas la contraction maximale du tibial antérieur de Lapin stimulé par l'intermédiaire de son nerf moteur.

Après curarisation par la *d*-TC, il exerce un faible renforcement de la paralysie à la dose de 10 à 25 mg/kg ; ce renforcement est plus net à 50 mg/kg mais lent, progressif et prolongé. La néostigmine après cette recurarisation est capable de restaurer totalement la transmission neuromusculaire, la préparation n'est donc pas atteinte et la néostigmine n'est pas inhibée par le sulfanilamide.

Cette potentialisation peut s'exercer également par injection préalable : en effet, une dose de *d*-TC faiblement active a provoqué une paralysie totale et prolongée de la préparation neuromusculaire du Lapin après administration de 50 mg/kg de sulfanilamide.

NAPHTAZOSULFAMIDE

Rubiazol soluble *

ou 2 - (4' sulfonamide-phénylazo) - 1-oxy-7-acétylaminonaphtyl-3-6-disulfonate de sodium.

Le naphthazosulfamide — non actif *in vitro* — doit son activité antibiotique *in vivo* au sulfanilamide qu'il libère au sein de l'organisme. C'est en effet un dérivé azoïque formé de sulfanilamide et d'acétaminonaphtol disulfonate de sodium.

Après curarisation partielle sur le Lapin, le naphthazosulfamide (50 mg/kg) conduit à une recurarisation très nette et instantanée. Trente minutes après, alors que les contractions ont presque atteint leur amplitude d'origine, une deuxième dose de 50 mg/kg de naphthazosulfamide potentialise encore nettement la *d*-TC.

D'autre part, la même dose de naphthazosulfamide injectée 10 minutes avant 50 µg de *d*-TC par kg (dose représentant le 1/8 de la dose nécessaire pour provoquer une paralysie profonde 80 à 95 p. cent) conduit à une curarisation de 50 p. cent. Une deuxième administration de naphthazosulfamide (50 mg/kg) est capable d'approfondir encore la paralysie jusqu'à 95 p. cent (fig. 25).



FIGURE 25.

Potentiation de la d-tubocurarine par le naphthazosulfamide sur la préparation nerf sciatique-muscle tibial antérieur du Lapin.

En 1 : à $t = 0$	<i>d</i> -tubocurarine	450 $\mu\text{g/kg}$
En 2 : à $t + 8$ min.	naphthazosulfamide	50 mg/kg
En 3 : à $t + 30$ min.	naphthazosulfamide	50 mg/kg
En 4 : à $t + 38$ min.	<i>d</i> -tubocurarine	50 $\mu\text{g/kg}$
En 5 : à $t + 42$ min.	naphthazosulfamide	50 mg/kg
En 6 : à $t + 48$ min.	néostigmine	100 $\mu\text{g/kg}$

(Cliché réduit aux 5/6).

L'effet potentialisateur de la curarisation peut donc s'exercer soit simultanément, soit après l'administration du curarisant : il est rapide et de relativement courte durée (environ 15 minutes).

SULFATHIO-URÉE (SOLUBLE)

ou para-amino-benzène sulfamido-thio-urée
(sel de triéthanol amine)
ou Solufontamide *.

La sulfathio-urée soluble à la dose de 25 mg/kg est sans action sur la contraction maximale du tibial de Lapin.

Par contre, après curarisation partielle, une dose identique produit un approfondissement instantané de la paralysie, mais de retour lent et progressif. Cet effet s'exerce encore, quoi que plus faible, 45 min. après l'injection de *d*-TC.

Injectée avant le curarisant, la sulfathio-urée soluble (25 mg/kg) potentialise encore la curarisation.

NOPRYLSULFAMIDE

ou para-(phényl 3-disulfonate 1-3-amino 1)-benzène sulfonamide
ou para (γ -phényl propylamino) phényl sulfamide disulfonate de sodium
ou Soluseptazine *

A la dose de 20 mg/kg, le noprylsulfamide ne modifie pas la contraction maximale du Lapin.

Après curarisation, son action potentialisatrice est très faible, quoique nette à 25 mg/kg et encore faible à 50 mg/kg ; elle ne gêne pas la reprise totale des contractions par la néostigmine.

Administré avant la *d*-tubocurarine, son action est faible et difficile à apprécier.

PHÉNOPRYLDIASULFONE SODIQUE (1)

C'est le di (γ -phénylpropylamino)-4, 4' diphényl sulfone
 $\alpha\alpha'$ $\gamma\gamma'$ -tétrasulfonate de sodium.

La phénopryldiasulfone sodique, sans action sur la contraction maximale du tibial antérieur, exerce une action potentialisatrice faible de la curarisation : les doses de 10 à 50 mg/kg sont inactives ; l'action est un peu plus marquée à 100, 150 et 200 mg/kg généralement proportionnelle à la dose.

Chez un seul animal, il a été observé une très légère action antagoniste (à 200 mg/kg).

La phénopryldiasulfone ne gêne pas la restauration de la transmission neuromusculaire par la néostigmine.

Il n'a pas été possible de mettre en évidence une action quelconque sur la curarisation par administration préalable de la sulfone.

(1) Cimédone *.

ACÉTAZOLAMIDE

DIAMOX * ou acétylamino 2-thio-diazol 3-4 sulfonamide 5.

L'acétazolamide est peu soluble dans l'eau froide (500 mg/l. env.), beaucoup plus à chaud : il est donc possible d'augmenter la solubilité en pratiquant des injections à 38°C. D'autre part, les hydrogènes libres de la fonction sulfonamide ayant un caractère acide faible, l'acétazolamide se dissout dans les bases, en donnant un dérivé sodique.

L'acétazolamide n'a pas d'action propre sur la contraction maximale du tibial de Lapin, mais il exerce une puissante potentialisation de la curarisation à des doses de 10 mg/kg environ.

Voici à titre d'exemple le compte rendu d'une expérience faite pour l'étude de ce corps (le tracé que nous n'avons pas reproduit peut s'inspirer de la fig. 47 obtenue avec la P.S.P., voir p. 224).

— au temps 0 : *d*-tubocurarine 100 µg/kg : aucune action,
+ 50 min. : acétazolamide 10 mg/kg : aucune action,
+ 1 h. 05 : *d*-tubocurarine 100 µg/kg : curarisation de 60 p.
cent lente et progressive,
+ 1 h. 35 : *d*-tubocurarine 100 µg/kg : curarisation 99 p. cent
prolongée.
puis retour à l'amplitude d'origine par injection de néostigmine.

Une telle expérience met en évidence la potentialisation de la curarisation par injection préalable d'acétazolamide. La préparation ne subit aucune atteinte.

Le phénomène est encore plus net quand le sulfamide est administré au début de la reprise spontanée d'une curarisation partielle : on obtient une potentialisation nette, progressive et prolongée.

Nous avons recherché si, sur le test de la chute de la tête, cette potentialisation s'exerçait de façon aussi intense.

Le test a été pratiqué par perfusion lente suivant la technique indiquée par le Professeur CHEYMOL (p. 93). Nous avons déterminé sur une série d'animaux, la dose atonisante de *d*-TC (étalonnage) et 48 heures après, la dose de *d*-TC sur les mêmes animaux, traités 15 min. avant le début de la perfusion par 10 mg/kg d'acétazolamide.

— Dose d'étalonnage 0,17 mg/kg
— Dose après acétazolamide 0,13 mg/kg

On observe donc une diminution de la dose atonisante de 23 p. 100 après acétazolamide : la potentialisation est donc plus faible sur ce test que sur la préparation neuromusculaire *in situ*.

A quoi attribuer cette différence ? Trois hypothèses sont possibles :

- la potentialisation ne s'observe que chez des animaux anesthésiés ;
- la potentialisation ne s'observe que vis-à-vis de curarisation profonde ; en effet, la dose de 130 $\mu\text{g/kg}$ n'est qu'atonisante et ne produit sur la préparation sciatique-tibial antérieur, qu'une action extrêmement faible puisqu'il faut atteindre, comme nous l'avons déjà vu, 420 $\mu\text{g/kg}$ pour obtenir une paralysie complète du muscle ;
- la potentialisation ne s'observe que sur des contractions obtenues par stimulation électrique et non par stimulation physiologique nerveuse.

CHLOROTHIAZIDE

Diurilix * — Chlotride *

ou 6-chloro 7-sulfanyl 1, 2, 4-benzothiadiazine 1,1-dioxyde.

Le chlorothiazide a été utilisé sous forme de dérivé sodique, soluble dans l'eau, préparé extemporanément (1,7 ml de soude N/5 pour 100 mg de chlorothiazide). La solution est légèrement alcaline : pH voisin de 8,0 (1).

Sur la contraction maximale du tibial antérieur de Lapin, le chlorothiazide aux doses de 15 à 50 mg/kg est sans effet.

Administré avant la *d*-TC, il ne semble pas potentialiser l'action de cette dernière : ainsi une dose normalement inactive de *d*-TC (100 $\mu\text{g/kg}$) injectée 5 ou 10 minutes après le chlorothiazide (15 à 50 mg/kg) ne produit aucune curarisation (2).

Par contre, sur une préparation neuromusculaire partiellement curarisée par la *d*-TC, on observe une recurarisation presque instantanée, dont la profondeur et la durée semblent proportionnelles à la dose de sulfamide injectée (10, 15, 20, 50 et 150 mg/kg). A 10 mg/kg, la potentialisation est très marquée pendant une dizaine de minutes, mais le retour à l'amplitude normale des contractions s'effectue en 25 minutes ; au contraire à 150 mg/kg, la recurarisation est totale pendant plus de 45 minutes.

Dans toutes les expériences, la néostigmine a ramené les contractions à leur amplitude d'origine : les mécanismes de la transmission neuromusculaire semblent ne subir aucune atteinte irréversible (fig. 26).

(1) Nous avons vérifié que l'alcalinité de la solution ne peut être mise en cause dans les expériences avec le chlorothiazide : une solution de phosphate disodique de pH 8,5 - 9,00 injectée par voie veineuse à raison de 150 mg/kg n'influence d'aucune manière le cours d'une curarisation par la *d*-TC.

(2) Voir p. 91 les remarques faites sur les difficultés d'apprécier la potentialisation par administration du composé actif avant le curarisant.

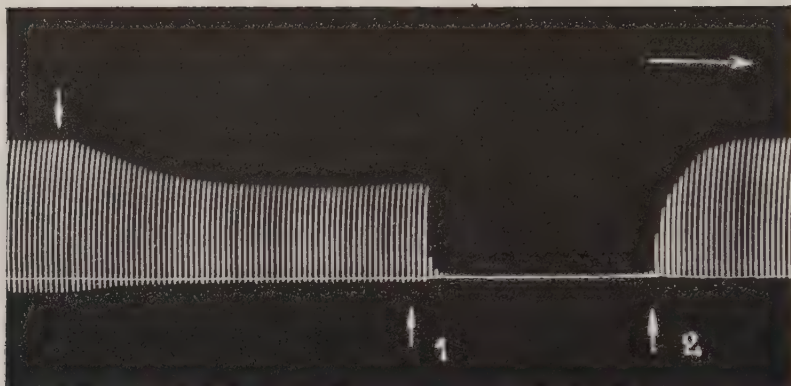


FIGURE 26.

Potentialisation de la d-tubocurarine par le chlorothiazide sur la préparation nerf sciatique - muscle tibial antérieur du Lapin.

En (↓) au temps $t = 0$: d-tubocurarine	200 $\mu\text{g/kg}$
En (↑ ₁) à $t + 10$ min. : chlorothiazide	15 mg/kg
En (↑ ₂) à $t + 15$ min. : néostigmine	100 $\mu\text{g/kg}$

PROBENECID

(BÉNÉMIDE *) Acide p. (di n-propylsulfamyl) benzoïque.

Le probenecid très peu soluble dans l'eau a été utilisé sous forme de dérivé sodique soluble préparé extemporanément par addition de soude jusqu'à pH 7,5.

Le probenecid n'exerce aucune action sur la transmission neuromusculaire aux doses de 10 et 20 mg/kg .

Administré (10 - 20 mg/kg) avant ou après la d-TC, il potentialise la curarisation. Cette action est très marquée tant en profondeur qu'en durée après injection de 20 mg/kg ; par exemple une dose vérifiée inactive de d-TC (100 $\mu\text{g/kg}$) conduit à une curarisation de 85 p. cent quand elle est injectée dix minutes après le probenecid.

Dans une des expériences, la néostigmine rétablit les contractions à leur hauteur d'origine de façon anormalement lente.

GLYBUTHIAZOL

(Glipazol *) — 2259 R.P. ou p-aminobenzène sulfamido-2 tertibutyl-5 thia-1 diazol-3,4.

Insoluble, il se dissout par addition de soude : la solution obtenue a un pH de 7,5 à 8,0.

Sans action propre sur la transmission neuromusculaire, le glybuthiazol potentialise l'action paralysante de la d-TC.

Administré (20 mg/kg) après le curarisant, il provoque une recuration peu profonde mais prolongée, réversible à la néostigmine (fig. 27).

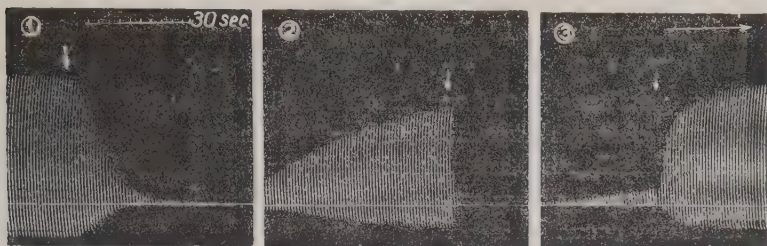


FIGURE 27.

Potentiation de la d-tubocurarine par le Glybuthiazol sur la préparation nerf sciatique-muscle tibial antérieur du Lapin.

En 1 : au temps $t = 0$: d-tubocurarine	350 $\mu\text{g/kg}$
En 2 : à $t + 40$ min. : glybuthiazol	20 mg/kg
En 3 : à $t + 1$ h. 30 : néostigmine	100 $\mu\text{g/kg}$

(Cliché réduit aux 5/8^e).

Cette potentialisation est plus nette quand la *d*-TC est injectée sur un animal ayant déjà reçu le sulfamide : avec des doses variant de 20 à 50 mg/kg, une dose de curarisant inactive (100 $\mu\text{g/kg}$) entraîne une forte paralysie allant de 40 à 95 p. cent. Le retour à la normale des contractions est généralement lent. Le temps au bout duquel la potentialisation semble maximum, est variable suivant les animaux.

Dans une expérience, *d*-TC et glybuthiazol ont été injectés l'un après l'autre ⁽¹⁾ (respectivement 100 $\mu\text{g/kg}$ et 20 mg/kg) : la dose théoriquement inactive de curarisant conduit à une diminution d'amplitude des contractions de 40 p. cent ; le retour à la normale a été dans ce cas relativement rapide.

Le glybuthiazol potentialise donc nettement la curarisation à des doses susceptibles de ne provoquer qu'une faible hypoglycémie.

SACCHARINE

ou imide sulfobenzoïque.

Nous avons utilisé le saccharinate de sodium qui cristallise avec 2 OH_2 (PM : 241) et qui est très soluble dans l'eau.

Après curarisation par la *d*-TC, le saccharinate de sodium (20 mg/kg) exerce un effet potentialisateur faible mais prolongé.

(1) Le mélange des deux solutions dans la même seringue pouvait conduire en raison du pH à la précipitation de l'alcaloïde.

TABLEAU VII
Rapport Constitution - Action des sulfamides et dérivés voisins étudiés

	P. M.	Principales fonctions chimiques	Activité physiologique	Potentialisation de la curarisation (1)	Caractères de la potentialisation
Acide sulfanilique ...	173	—SO ₃ H et —NH ₂		+	Faible
Sulfanilamide	172,2	—SO ₂ NH ₂	Antibiotique	++	Lente, progressive prolongée
Naphtazosulfamide ..	335,3	—SO ₂ NH ₂ et —N=N—	Antibiotique	++ +	Rapide, de courte durée
Sulfathiourée	231,2	—NH ₂ et —SO ₂ NH R	Antibiotique	++ +	Rapide et prolongée
Noprylsulfamide	494,5	—SO ₂ NH ₂ —NH R et —SO ₃ H	Antibiotique	+	Faible
Phénopryldiasulfone sodique	965	—SO ₂ — NH R et —SO ₃ H	Antibiotique	+	Faible
Acétazolamide	222	—SO ₂ NH ₂ et —NHCO—CH ₃	Inhibiteur de l'anhydrase carbonique	++ + + +	Nette, progressive et prolongée
Chlorothiazide	295,7	—SO ₂ NH ₂ , di-oxyde de benzothiadiazine	Inhibiteur de l'anhydrase carbonique	++ + + +	Instantanée, nette et prolongée
Probenecid	285	—SO ₂ N R ₂ et —COOH	Inhibiteur de la fonction tubulaire	++ + + +	Nette et prolongée
Glybutiazol	312,4	—SO ₂ NH R et —NH ₂	Hypoglycémiant	++ + +	Nette et prolongée
Saccharine	183,2	—SO ₂ NH—CO—	Pouvoir sucrant	++ +	Faible et prolongée

(1) Intensité de l'action proportionnelle au nombre de croix.

DISCUSSION DES RESULTATS

Nous avons regroupé dans le tableau VII les résultats expérimentaux et les caractéristiques principales des molécules étudiées.

Toutes ces molécules à doses modérées proches de celles utilisées en thérapeutique, renforcent l'action curarisante de la *d*-TC chez le Lapin sans agir sur les mécanismes de la transmission myoneurale ou de la contraction musculaire ⁽¹⁾.

Seuls, à notre connaissance, FERRARI [110], PACCA et VADILONGA [226] et CAVALLI [50] ont jusqu'ici décrit une telle action pour la caronamide.

Mais cette potentialisation ne peut être attribuée aux seuls inhibiteurs tubulaires, puisque nous la retrouvons avec tous les dérivés étudiés : elle est donc liée à la fonction chimique sulfamide.

Il faut, toutefois, noter certaines différences quantitatives et qualitatives entre l'action de chacun des composés. Elles peuvent être attribuées soit à des propriétés générales de vitesse de résorption, de diffusion et d'élimination ⁽²⁾, soit à la structure propre de chaque molécule.

1° DIFFÉRENCES QUANTITATIVES :

Le nombre des croix placées dans l'avant-dernière colonne du tableau VII permet de comparer approximativement l'activité des produits entre eux : le plus actif est l'acétazolamide (dose active 10 mg/kg), puis ensuite par ordre décroissant, le chlorothiazide (15 mg/kg), le probenecid (20 mg/kg), le glybuthiazol (20 à 50 mg/kg), la sulfathio-urée soluble (25 mg/kg), le naphthazosulfamide (50 mg/kg), le sulfanilamide (50 mg/kg), la saccharine, le noprilsulfamide, la phénopryldiasulfone sodique et l'acide sulfanilique.

Les sulfamides, dont les propriétés particulières ont fait l'objet d'études plus récentes — inhibiteur tubulaire — inhibiteur de l'anhydrase carbonique — hypoglycémiant — sont les plus actifs sur la curarisation.

2° DIFFÉRENCES QUALITATIVES :

Trois composés paraissent avoir une action rapide : le naphthazosulfamide, le chlorothiazide et la sulfathio-urée soluble, de courte durée pour le premier, plus prolongée pour les seconds.

Tous les autres dérivés ont une action lente s'établissant progressivement et généralement prolongée.

(1) Il ne semble pas en être de même sur le *rectus* de Grenouille. TORDA et WOLF [277-278] montrent que les sulfamides augmentent la sensibilité du muscle à l'acétylcholine. LECOMTE [202] observe une action contracturante.

(2) Voir à ce sujet les remarques faites par MILLICHAP et Coll. sur l'activité comparée du sulfanilamide et de l'acétazolamide vis-à-vis de l'anhydrase carbonique au niveau du cerveau, citées par R. HAZARD et P. PIGNARD [152].

ESSAI D'INTERPRETATION

Si des différences ont pu être observées entre les actions des quelques dérivés étudiés, tous potentialisent la paralysie par la *d*-TC. C'est donc dans les propriétés communes aux composés présentant le groupement fonctionnel sulfonamide, qu'il faut rechercher l'interprétation possible de ce phénomène. Celles-ci peuvent se résumer à trois :

- caractère acide,
- inhibition enzymatique,
- fixation sur les protéines plasmatiques.

1° CARACTÈRE ACIDE :

Les sulfonamides généralement peu solubles dans l'eau sont solubilisés par les acides minéraux dilués et la soude diluée, mais en solution ils ont tendance à s'ioniser et à fonctionner comme acides faibles (LEBEAU et JANOT [201]). L'ionisation en $[R-SO_2N R]^-$, H^+ explique la formation facile de sels alcalins tels que $R-SO_2 N (Na) R$.

Le radical acide serait-il capable d'échanger avec l'ion ammonium quaternaire des liaisons électrostatiques susceptibles de former un composé peu soluble ? La formation d'un tel composé pourrait expliquer — comme nous le verrons au chapitre des matières colorantes (voir p. 236) — la potentialisation de la curarisation. Tous les essais effectués dans ce sens en solution tamponnée à pH 7,4 se sont avérés négatifs ; aucune précipitation ne s'est produite, quelles que soient les concentrations respectives en sulfamide et en *d*-TC. La formation d'une combinaison ne nécessite cependant pas qu'il y ait précipitation, car certaines de ces combinaisons ne sont pas suffisamment stables et peuvent ne pas conduire à un produit insoluble.

D'autre part, le probenecid a son azote de la fonction sulfamide disubstitué, ne permettant pas une ionisation selon le schéma général indiqué. Celle-ci pourrait se faire pas la fonction acide du probenecid mais ne mettrait plus en cause la fonction sulfamide.

Il nous semble donc difficile de conclure que le caractère acide des sulfamides est responsable de la potentialisation du curare que ceux-ci provoquent.

2° INHIBITION ENZYMATIQUE :

Tous les dérivés sulfamidés actifs connus jusqu'ici, interviennent dans l'organisme en inhibant certains enzymes ou système enzymatique. Cette inhibition constitue l'explication généralement admise du mode d'action de la plupart d'entre eux.

De telles propriétés ont été invoquées pour expliquer le mécanisme

de l'effet potentialisateur du SKF 525 A (1) vis-à-vis de substances diverses : hypnotiques, anticonvulsivants, analgésiques, dépresseurs spinaux, excitants et convulsivants. Le SKF 525 A inhiberait divers systèmes enzymatiques intervenant dans la destruction par l'organisme des molécules actives et ainsi augmenterait leurs effets pharmacologiques en les protégeant. D. BOVET et coll. [28] écartent une telle hypothèse pour la potentialisation de quelques agents curarisants par le SKF 525 A.

Peut-on l'appliquer aux dérivés sulfamidés ? Il n'existe pas — à notre connaissance — de système enzymatique susceptible d'être inhibé par tous les dérivés à fonction sulfonamide : en effet, la structure de chaque molécule et les radicaux substituants de l'azote de la fonction $-\text{SO}_2\text{N}<$ orientent de façon différente les effets inhibiteurs.

Les sulfamides « antibiotiques » — à groupements spécifiques $-\text{SO}_2\text{N}<$ avec NH_2 en para — inhibent un système enzymatique où le P.A.B. intervient comme co-enzyme ; il y a compétition entre l'acide para-aminobenzoïque et le para-aminophénylsulfonamide.

Les sulfamides « inhibiteurs tubulaires » — contenant $-\text{SO}_2\text{N}<$ et $-\text{COOH}$ en para — sont des inhibiteurs compétitifs du système enzymatique responsable du transport tubulaire dans lequel intervient le co-enzyme A : l'élimination urinaire de la *d*-TC pourrait ainsi être retardée.

Les sulfamides ayant leur radical $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ libre inhibent l'anhydrase carbonique.

Les sulfamides « hypoglycémiants », outre leurs propriétés stimulantes sur les cellules β du pancréas, inhiberaient certaines phosphatases, phosphokinasés ou phosphorylases.

LECOMTE [202] invoque un effet inhibiteur des sulfamides sur le métabolisme du glucose au niveau du muscle, pour expliquer les effets contracturants avec inexcitabilité qu'il observe sur le *rectus* de Grenouille. Cette diminution de l'apport énergétique du muscle — par inhibition d'enzymes telles que les phosphorylases — pourrait être retenue pour expliquer la potentialisation : dans la transmission neuromusculaire, la fibre striée ne serait plus capable de répondre totalement à des potentiels d'action déjà affaiblis par les effets de la *d*-TC au niveau de la plaque motrice.

Plusieurs auteurs (E. ZELLER [300] et G. DHELLEMMES [94]) admettent que les sulfamides (2) sont inhibiteurs de la pseudocholinestérase sérique. Cette inhibition nécessite des concentrations relativement élevées, réalisées toutefois lors de l'emploi thérapeutique de ces médica-

(1) Chlorhydrate de diéthylamino-éthyl-diphénylpropyl-acétate. Voir p. 59.

(2) Leur expérimentation comprend uniquement des sulfamides antibiotiques.

ments. Un tel effet conduirait en principe, à un antagonisme de la curarisation, à supposer que l'effet inhibiteur s'exerce également sur la cholinestérase des plaques motrices. Par contre, une inhibition de la choline-acétylase pourrait fournir une explication possible aux phénomènes de potentialisation : une diminution de la quantité disponible d'acétylcholine modifierait en faveur du curarisant l'équilibre entre ces deux substances au niveau de la plaque motrice, équilibre que l'on sait régi par la loi d'action de masse. Les observations de LIPMANN et KAPLAN [204], montrent que le co-enzyme capable d'acétyler le sulfanilamide est identique à celui qui acétyle la choline : ce co-enzyme est appelé « co-enzyme A ». On pourrait donc admettre une compétition entre sulfanilamide et choline en vue de leur acétylation. On a vu plus haut ⁽¹⁾ que certains sulfamides — en se fixant de façon préférentielle sur le co-enzyme A — entravent les fonctions de ce dernier dans les mécanismes de transport tubulaire. Il pourrait en être de même au niveau des terminaisons nerveuses motrices. Cette hypothèse ne semble toutefois pas vérifiée par les travaux de TORDA et WOLFF [278] sur le cerveau de Grenouille : les sulfamides ne modifieraient pas — à ce niveau — la synthèse de l'acétylcholine.

En conclusion, si des propriétés inhibitrices de certains enzymes — phosphorylases, co-enzyme A au niveau des tubuli ou des terminaisons nerveuses motrices — permettent d'interpréter la potentialisation de la curarisation par les sulfamides, elles semblent trop spécifiques d'une structure particulière pour expliquer un phénomène général retrouvé avec tous les types de sulfamides.

3° FIXATION SUR LES PROTÉINES PLASMATIQUES :

Tous les sulfamides sont susceptibles de se fixer sur les protéines plasmatiques : cette fixation a lieu principalement sur la fraction albuminique (55 à 75 pour cent). La liaison est labile, car le sulfamide n'est pratiquement pas précipité par les réactifs défécants habituels. Toutefois, le sulfamide lié est inactif ou plus exactement constitue une source potentielle de médicament actif.

La *d*-TC administrée par voie intraveineuse ou ajoutée *in vitro* à du plasma humain, se fixe sur les protéines plasmatiques ⁽²⁾. Une intéressante étude de cette liaison *d*-tubocurarine - protéines plasmatiques a été récemment faite par L. ALADJEMOFF et coll. [3].

Cette fixation a lieu sur les fractions albumine et globulines γ dans des proportions variables suivant les sujets : environ 40 p. cent ; certains

(1) Voir p. 153.

(2) La possibilité de combinaison du « curare » avec les protides (gélatine - protéines du cerveau) avait été observée dès 1929 par KARASSIK et coll. [170].

sujets, réfractaires à la curarisation, présentent une fixation presque totale sur les protéines plasmatiques (surtout l'albumine).

La fixation de la *d*-TC sur l'albumine peut s'effectuer dans des proportions considérables et semble fonction du temps. La liaison est très stable, car la *d*-TC est entraînée en très faibles proportions par dialyse (environ 10 p. cent). La *d*-TC incubée avec l'albumine et administrée à des chiens ne présente aucune activité ; il faut cinq doses fixées sur l'albumine pour obtenir l'effet d'une dose normale. La *d*-TC liée à l'albumine ne semble donc pas capable de constituer spontanément comme dans le cas des sulfamides, une réserve potentielle de curarisants.

Les globulines γ présentent elles aussi la possibilité de fixer des quantités considérables de *d*-TC, mais la liaison paraît plus labile, car par dialyse 20 p. cent de la *d*-TC sont entraînés. La *d*-TC incubée avec des globulines γ et administrée à des chiens présente une activité fortement diminuée.

Le rapprochement de ces phénomènes de fixation des sulfamides et de la *d*-TC sur une même fraction albuminique des protéines plasmatiques permet d'émettre une hypothèse sur l'influence d'une de ces molécules sur l'autre. On pourrait admettre que le sulfamide s'oppose à la fixation ou déplace la *d*-TC de sa combinaison avec les protéines plasmatiques. Celle-ci, libérée dans la circulation, pourrait atteindre les récepteurs spécifiques de la place motrice et, suivant que le sulfamide a été administré avant ou après le curarisant, augmenter la profondeur de la paralysie ou provoquer une curarisation supplémentaire. Cette hypothèse peut être posée malgré la plus grande labilité de la liaison sulfamide-protéine, en raison de la concentration plasmatique bien supérieure en composé sulfamidé nécessaire pour obtenir l'effet de potentialisation.

Cet essai d'interprétation d'un « déstockage » ou d'une action « anti-stockante » rejoint celle que BOVET et coll. [28] proposent pour le mécanisme du SKF 525 A ⁽¹⁾ : les récepteurs aspécifiques dont parlent ces auteurs seraient, dans notre cas, les protéines plasmatiques.

4° DIFFÉRENCES QUANTITATIVES ET QUALITATIVES :

Quel que soit le mécanisme véritable de l'effet potentialisateur, les résultats expérimentaux obtenus mettent en évidence des différences d'activité entre les quelques composés étudiés.

Les doses actives de ces composés varient de 10 à 100 mg/kg ; ces différences d'activité, outre la rapidité de résorption, diffusion, d'élimination propre à chaque molécule, peuvent être expliquées par la labilité relative de leur liaison avec les protéines.

Trois molécules se différencient des autres composés sulfamidés

(1) Voir p. 59 et 153.

étudiées par leur action rapide contrastant avec les effets progressifs constatés généralement.

Le naphthazosulfamide a une action plus marquée et plus rapide que le sulfanilamide qui constitue une des moitiés de la molécule. Il faut admettre que le radical naphthalène substitué possède une action propre sur la curarisation ⁽¹⁾ : nous n'avons malheureusement pas pu jusqu'ici nous procurer ce composé et apporter à cette question la réponse de l'expérience.

La sulfathio-urée soluble est le sel de triéthanolamine de la sulfathio-urée.

Il n'est pas exclu que cette base organique participe pour son propre compte à l'effet potentialisateur en le rendant instantané.

Quant au chlorothiazide, rien en dehors de la structure chimique propre ne peut expliquer la rapidité avec laquelle se produit la potentialisation de la curarisation.

CONCLUSIONS

Quelques composés à fonction sulfonamide de propriétés pharmacologiques variées : antibiotiques — inhibiteurs tubulaires — inhibiteurs de l'anhydrase carbonique ou hypoglycémiants, ainsi que des dérivés voisins sont capables de potentialiser la curarisation.

Cette potentialisation s'exerce que le sulfonamide soit administré avant ou après la *d*-TC. Elle est généralement progressive et prolongée, supposant des réactions d'équilibre lentes à s'établir.

Parmi les essais d'interprétation que nous proposons, le déplacement par le sulfamide de la *d*-TC fixée sur les protéines plasmatiques, nous paraît, à l'heure actuelle, le plus probable, mais bien des problèmes sont encore à éclaircir. Des études biochimiques entre autres, permettraient d'analyser de façon précise le problème de la fixation de molécules médicamenteuses sur les diverses fractions protéiniques du plasma et la nature

(1) Voir les composés voisins étudiés au chapitre VII.

exacte de la liaison. Peut-être, une étude enzymatique rendra possible la généralisation de certaines propriétés inhibitrices, de la phosphorylase ou du co-enzyme A par exemple, à tous les composés sulfamidés et donnera au phénomène de potentialisation de la curarisation une interprétation que nous n'avons pu retenir.

Nos conclusions impliquent que si les résultats expérimentaux obtenus sur le Lapin sont transposables à l'homme, le phénomène de potentialisation apparaît pour des concentrations sanguines correspondant aux concentrations thérapeutiques habituelles. Un malade sous traitement sulfamidé sera donc sensibilisé aux effets d'un agent curarisant ; il importera dans de telles circonstances de surveiller de très près le degré de paralysie obtenu.

CHAPITRE IV

THIO-HYDANTOINES — THIO-BARBITURIQUES

INTRODUCTION.

DISCUSSION DES RÉSULTATS :

1° Dérivés de l'hydantoïne :

- 1^{er} groupe : antagonisme
- 2^e groupe : sans action marquée
- 3^e groupe : potentialisation.

2° Dérivés barbituriques :

- Mébubarbital
- Penthiobarbital
- Somnifène *.

DISCUSSION DES RÉSULTATS — ESSAI D'INTERPRÉTATION :

1° Dérivés de l'hydantoïne :

- Nature des radicaux fixés sur le carbone 5.
- Nombre d'atomes de soufre.

2° Dérivés barbituriques :

- a) action sur la contraction musculaire,
- b) action sur la curarisation.

CONCLUSIONS.

La malonylurée (ou acide barbiturique) et l'hydantoïne résultent de la condensation, respectivement de l'acide malonique et de l'acide glycolique avec l'urée. Si cette condensation est faite avec la thio-urée, on obtient un thio-barbiturique ou une thio-hydantoïne. Dans ce dernier cycle, on peut remplacer le dernier chaînon —CO— par un chaînon —CS— et obtenir une dithiohydantoïne. Par suite de l'accumulation des groupements CO ou CS, la malonylurée et l'hydantoïne présentent deux propriétés chimiques particulières :

- l'hydrogène fixé sur un des azotes présente un caractère acide ;
- les deux hydrogènes du chaînon $\text{—CH}^2\text{—}$ sont mobiles et substituables successivement par un puis deux radicaux alcoylés, donnant ainsi naissance à une très vaste série de composés.

Parmi eux, nous avons étudié onze corps dérivés de l'hydantoïne, thio-hydantoïne ou dithio-hydantoïne et trois dérivés barbituriques ou thio-barbituriques. Cette étude comprenant à la fois les dérivés soufrés et oxygénés, permettra de mettre en évidence l'influence de l'atome de soufre dans leurs actions au niveau de la jonction neuromusculaire.

DERIVES DE L'HYDANTOÏNE :

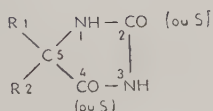
Leur constitution est montrée dans le tableau VIII. Cinq composés contiennent deux atomes de soufre, quatre en contiennent un seul et deux n'en contiennent pas.

Ces différentes molécules ont déjà fait l'objet d'une étude pharmacologique dans le domaine des anti-épileptiques (HAZARD et coll. [148]) et dans celui des anti-thyroïdiens (CHEYMOL et coll. [75]) : on y retrouve en effet le groupement $\text{—}\overset{\text{S}}{\underset{\text{||}}{\text{C}}}\text{—N=}$ responsable de cette dernière propriété.

Ces composés sont peu solubles dans l'eau ; on les utilise généralement sous forme de dérivés sodiques ou calciques solubles ; ceux-ci étant

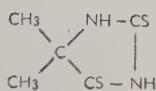
TABLEAU VIII

Constitution des dérivés de l'hydantoïne étudiés



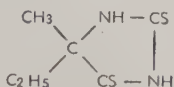
formule générale

1° Dérivés de la dithio-2,4 hydantoïne :



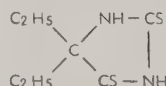
Diméthyl dithio
hydantoïne

PM = 160 F = 142°C



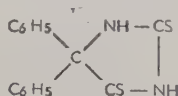
Méthyléthyl dithio
hydantoïne

PM = 174 F = 147°C



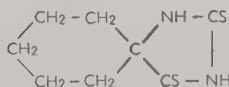
Diéthyl dithiohydantoïne

PM = 188 F = 151°C



Diphényl dithio-
hydantoïne

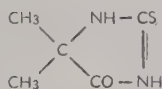
PM = 284 F = 254°C



Cyclohexyl dithio-
hydantoïne

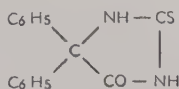
PM = 200 F = 261°C

2° Dérivés de la thio-2 hydantoïne :



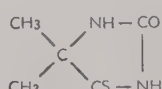
Diméthylthio-2
hydantoïne

PM = 144 F = 174°C



Diphénylthio-2
hydantoïne

PM = 268 F = 235°C

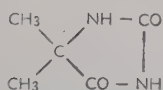


Diméthyl thio-4
hydantoïne

PM = 144 F = 240°C

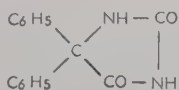
3° Dérivé de la thio-4
hydantoïne :

4° Dérivés de l'hydantoïne :



Diméthyl hydantoïne

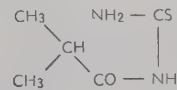
PM = 128 F = 175°C



Diphényl hydantoïne

PM = 252 F = 295°C

5° Précurseur :



Isobutyryl thiourée

PM = 146 F = 112°C

facilement hydrolysables, il importe de préparer extemporanément la solution.

DERIVES BARBITURIQUES :

Parmi les très nombreux dérivés de la série, nous avons limité notre étude au penthiobarbital ⁽¹⁾ (Thiopental *, Pentothal * ou Nesdonal *) et au barbiturique correspondant non soufré, le Mébubarbital (Pentobarbital * - Nembutal *). Accessoirement, nous avons été conduit à étudier l'action du Somnifène * : qui est une solution aqueuse de diéthylmalonylurée et d'allylisopropylmalonylurée, dissous par addition de diéthylamine.

RESULTATS EXPERIMENTAUX ⁽²⁾

1° DERIVES DE L'HYDANTOÏNE :

Nous avons recherché l'action antagoniste éventuelle de ces dérivés sur la curarisation par la *d*-tubocurarine (*d*-TC) et accessoirement sur celle d'un acétylcholinomimétique — le 606 H.C. — chez le Lapin ⁽³⁾. Les doses utilisées ont été moléculairement équivalentes à 50 mg/kg de diméthylidithiohydantoïne (exprimées en sel monosodique).

Dans leur action vis-à-vis de la *d*-TC, et du 336 H.C. curarisant de synthèse du type curarimimétique, les dérivés de l'hydantoïne se divisent en trois groupes, comme on peut le voir sur le tableau IX.

a) Le 1^{er} groupe est celui des molécules à action antagoniste, il comprend deux dérivés de la dithiohydantoïne : le diméthyl et le méthyléthyl ;

(1) Le Penthiobarbital a été utilisé sous la forme du dérivé sodique en solution extemporanée dans le soluté physiologique.

(2) Déjà en partie publiés, J. CHEYMOL et coll. [73].

(3) Ces expériences ayant été les premières de notre travail, les conditions expérimentales sont un peu différentes de celles décrites dans la II^e partie. Anesthésie au Somnifène 0,5 ml/kg intraveineux et enregistrement des contractions du jambier postérieur.

dans la fig. 28 on peut voir en 1 et 2 la reprise des contractions, après injections de chacune de ces substances. Cette reprise est généralement totale mais plus progressive pour la diméthyl dithiohydantoïne que pour la méthyléthyl ; si nous comparons la forme des tracés à celle de trois antagonistes que l'on peut considérer comme étalons (voir fig 12, p. 54) : ésérine, néostigmine et édrophonium, les actions de nos deux produits se situent entre celle de la néostigmine et celle de l'édrophonium.

Nous avons recherché si ces deux dérivés de la dithiohydantoïne étaient susceptibles d'inhiber la cholinestérase. Ils ne présentent pratiquement aucun pouvoir anti-estérasique tant sur la pseudocholinestérase du sérum humain que sur la cholinestérase vraie du cerveau du cobaye : les doses nécessaires pour obtenir une inhibition de 25 p. cent de l'enzyme sont 50.000 fois pour le dérivé diméthyle, 125.000 fois pour le dérivé méthyléthyle, plus grandes que celles d'ésérine ou de néostigmine.

Leur action antagoniste semble se limiter aux seuls curarimimétiques, car après blocage de la transmission neuromusculaire par le 606 HC (acétylcholinomimétique), la diméthyl dithiohydantoïne, injectée au début de la reprise spontanée, au lieu de favoriser cette reprise, conduit à un arrêt total et prolongé des contractions : c'est ce que l'on peut voir sur le tracé 3 de la fig. 28.

b) Le 2^e groupe réunit les molécules n'exerçant aucune action sur la curarisation par la *d*-TC : ce sont les 2 diméthyl monothiohydantoïnes, la diméthylhydantoïne, l'isobutyrylurée et la cyclohexyl dithiohydantoïne. Notons qu'avec la cyclohexyl dithiohydantoïne, une légère recurarisation peut être observée.

c) Enfin les substances du 3^e groupe administrées au début de la reprise spontanée d'une curarisation par la *d*-TC ou le 336 HC, conduisent à une recurarisation de la préparation. Ce sont la diéthyl dithiohydantoïne et les trois dérivés diphényl de l'hydantoïne, de la thio-2-hydantoïne et de la dithiohydantoïne.

S'agit-il d'une potentialisation, ou d'une addition d'effets ? Nous avons pour cela recherché si ces substances présentaient sur le *rectus abdominis* de Grenouille des propriétés curariformes : aux doses de 1000 à 10.000 fois celles de *d*-TC, ces substances s'opposent à la contracture acétylcholinique du *rectus*. Etant donné les doses très élevées, il convient mieux de parler d'action curariforme, car celle-ci ne semble pas présenter une spécificité suffisante.

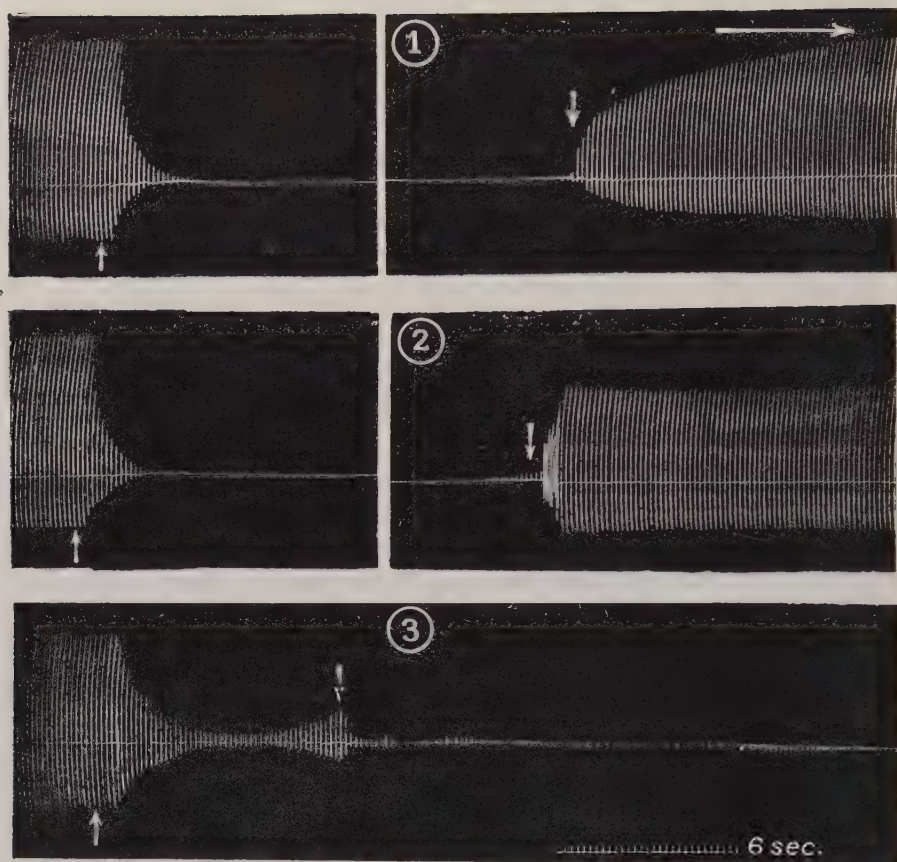


FIGURE 28.

Action de la diméthyl et de la méthyl éthyldithiohydantoïne sur la curarisation.

Tracé 1 :	A gauche	↑	: curarisation par <i>d</i> -tubocurarine.	
	A droite	↓	: diméthyldithiohydantoïne de sodium	50 mg/kg
Tracé 2 :	A gauche	↑	: curarisation par <i>d</i> -tubocurarine.	
	A droite	↓	: méthyléthylthiohydantoïne de sodium	50 mg/kg
Tracé 3 :	A gauche	↑	: curarisation par 606 H.C.	50 µg/kg
	A droite	↓	: diméthyldithiohydantoïne de sodium	50 mg/kg

Ext. de [73].

2° DERIVES BARBITURIQUES :

L'influence que peuvent avoir les barbituriques sur les curarisants constitue un problème très important à étudier, du fait de l'association fréquente de ces deux types de substances en anesthésiologie. Aussi beaucoup de travaux lui ont été et lui sont encore consacrés. Nous en ferons l'analyse lors de la discussion de nos résultats.

MÉBUBARBITAL

ou méthyl-1' butyl-5 éthyl-5 malonylurée : Pentobarbital * - Nembutal *.

Sur les contractions maximales directe et indirecte ⁽¹⁾ du Lapin décérébré, le mébubarbital aux doses de 10-15-20 mg/kg par voie intra-veineuse ou mieux artérielle, exerce une potentialisation proportionnelle aux doses administrées. Aux doses les plus élevées, on observe une deuxième phase de dépression plus intense sur la contraction indirecte.

Après curarisation par la *d*-TC, le mébubarbital (aux mêmes doses) exerce chez le Lapin une potentialisation de la curarisation, c'est-à-dire un approfondissement de la paralysie.

PENTHIOBARBITAL

Thiopental * - Pentothal * - Nesdonal *
acide éthyl-5 (Méthyl-1' Butyl)-5 thio-2 barbiturique.

Sur les contractions maximales directe et indirecte du Lapin décérébré, le penthiobarbital exerce aux doses de 5 mg/kg par voie veineuse ou 2-5-10 mg/kg par voie artérielle une potentialisation nette et prolongée.

Après curarisation franche ou faible par la *d*-TC (diminution d'amplitude de 30 à 70 p. cent) et début de reprise spontanée, le penthiobarbital aux doses de 5 à 50 mg/kg, conduit à une recurarisation proportionnelle aux doses employées, mais toujours réversible à la néostigmine, montrant l'intégrité de la préparation.

Toutefois, après de telles expériences, si on injecte le penthiobarbital dès que l'amplitude a atteint son amplitude d'origine, on observe à nouveau une augmentation de l'amplitude maximale.

Lors de quelques expériences sur lapins décérébrés, nous avons observé un certain antagonisme préventif de la *d*-TC par le penthiobarbital ; il faut toutefois que les doses de curarisants ne soient pas trop fortes. Malheureusement, les préparations neuromusculaires *in situ* ne se prêtent pas à des déterminations quantitatives en raison de l'impossibilité d'obtenir deux fois un même effet avec deux doses identiques (sensibilisation spontanée) (voir p. 92) et surtout des variations de sensibilité et de sensibilisation suivant les animaux. Dans le cas présent, il s'agit donc beaucoup plus d'impressions d'antagonisme établies d'après les effets auxquels conduit généralement une dose connue de *d*-TC. Dans nos conditions expérimentales, deux doses successives de 200 µg/kg de *d*-TC i. v. conduisent généralement à une paralysie diminuant l'amplitude des contractions d'environ 80 p. cent. Avec un traite-

(1) La contraction maximale directe est obtenue par excitation de la fibre musculaire, l'indirecte par excitation du nerf moteur. Voir p. 90.

ment préalable par le penthiobarbital (5 mg/kg) ces mêmes doses n'ont produit qu'une paralysie de 30 p. cent.

SOMNIFÈNE *

Nous avons occasionnellement étudié l'influence de ce produit sur la contraction musculaire et sur la curarisation afin de pouvoir l'utiliser pour anesthésier nos animaux. Nous avons dû l'abandonner en raison de ses propriétés potentialisatrices de la curarisation.

En effet, sur la contraction normale du tibial de Lapin décérébré, le Somnifène * 0,5 ml/kg (dose anesthésique) produit une augmentation légère de l'amplitude d'origine. Sur une préparation identique curarisée, le Somnifène * administré à la même dose et au début de la reprise spontanée, produit une action complexe diphasique : une première phase courte d'arrêt de la reprise, puis une deuxième phase prolongée de recurarisation, celle-ci est réversible par l'édrophonium.

L'interprétation de ces faits semble difficile, car nous avons affaire non seulement à un mélange de deux barbituriques, mais encore à la diéthylamine, solubilisant susceptible d'agir pour son propre compte.

TABLEAU IX
Rapport Constitution - Action des dérivés de l'hydantoïne étudiés

Dérivé de l'hydantoïne	P. M.	Nombre d'atome de Soufre	Radicaux fixés sur le C5	Action anti-curariminétique (1)
Diméthylldithio-	160	2	Diméthyl	+
Méthyléthylldithio-	174	2	Méthyl éthyl	+
Diméthylthio-2	144	1	Diméthyl	0
Diméthylthio-4	144	1	Diméthyl	0
Diméthyl	128	0	Diméthyl	0
Isobutyrylthiourée	146	1	Diméthyl	0
Cyclohexylldithio-	200	2	Cyclohexyl	0 (ou légèrement—)
Diéthylldithio-	188	2	Diéthyl	—
Diphényldithio-	284	2	Diphényl	—
Diphénylthio-2-	268	1	Diphényl	—
Diphényl	252	0	Diphényl	—

(1) + action antagoniste.
0 pas d'action.
— recurarisation.

ESSAI D'INTERPRETATION

1° DERIVES DE L'HYDANTOINE.

Pour faciliter la comparaison des activités de ces différents dérivés, les résultats expérimentaux ont été groupés dans le tableau IX. L'évolution, depuis l'action antagoniste jusqu'à l'action recurarisante, est fonction de deux caractères chimiques :

- la nature des radicaux fixés sur le carbone 5 ;
- le nombre d'atomes de soufre rentrant dans la molécule.

a) NATURE DES RADICAUX FIXÉS SUR LE CARBONE 5 :

L'action antagoniste ne se retrouve que pour des dérivés à radicaux légers diméthyle ou méthyléthyle : il faut remarquer la présence indispensable d'au moins un groupement méthyle ; condition nécessaire mais non suffisante. En effet, ces mêmes radicaux légers sont les substituants de plusieurs dérivés inactifs sur la curarisation (les deux diméthylthiohydantoïnes, la diméthylhydantoïne et l'isobutyrylthio-urée). Le dérivé à radical cyclohexyle d'importance intermédiaire se situe pharmacologiquement entre les inactifs (2° groupe) et le dernier groupe recurarisant. Ce dernier comprend les dérivés à radicaux plus lourds (diéthyle ou diphényle) qui semblent imposer, quel que soit le reste de la molécule, l'effet recurarisant.

b) NOMBRE D'ATOMES DE SOUFRE RENTRANT DANS LA MOLECULE :

Là encore, la présence de deux atomes de soufre est une condition nécessaire mais non suffisante à l'existence d'une action antagoniste : en effet, on retrouve des dérivés dithio dans les deux autres groupes. Les dérivés monothio, soit en 2, soit en 4, quoique possédant les radicaux diméthyle, sont inactifs.

La présence du soufre semble beaucoup moins importante dans les molécules du 3° groupe : nous y rencontrons en effet les 3 dérivés diphényle, qu'ils soient oxygénés, monothio ou dithio.

2° DERIVES BARBITURIQUES :

De nombreuses études, souvent très approfondies, ont été faites pour analyser et expliquer l'action de différents composés barbituriques et thio-barbituriques sur la contraction musculaire et sur la curarisation. Les auteurs ne sont pas tous d'accord, mais la difficulté de tirer une idée générale de ces travaux provient du fait que les conditions expérimentales ne sont pas comparables : espèces animales différentes, animal

entier ou préparations neuromusculaires isolées, dérivés barbituriques différents.

Nous avons limité notre travail à la recherche d'une opposition éventuelle entre barbituriques oxygénés et barbituriques soufrés en confrontant nos résultats à ceux trouvés dans la littérature, d'une part sur la contraction musculaire, d'autre part sur la curarisation.

a) SUR LA CONTRACTION MUSCULAIRE :

GROSS et CULLEN [135], expérimentant sur le gastrocnémien du Chien, concluent à une action curariforme du pentothio-barbital pour des concentrations sanguines élevées : le mécanisme serait périphérique, car l'action n'est pas supprimée par section du nerf moteur.

HUSTON et coll. [160], pour éviter les effets généraux des doses élevées de barbiturique, utilisent la patte isolée perfusée du Chien, enregistrant les contractions du gastrocnémien ; les barbituriques sont dissous dans le sang défibriné servant à la perfusion. A concentration élevée, les deux oxybarbituriques expérimentés (mébubarbital, sécobarbital) sont des déprimeurs de la jonction neuromusculaire. L'irréversibilité de cette dépression — que constatent les auteurs — nous semble due plus aux conditions expérimentales qu'aux effets des dérivés étudiés.

SECHER [264] utilisant la préparation nerf phrénique-diaphragme de Rat précise et confirme les résultats de HUSTON et coll.

Les oxy-barbituriques exercent une potentialisation de la contraction indirecte mais par augmentation des doses ils en provoquent la dépression. Sur la contraction directe, l'héxobarbital et l'enibomal sont sans action, alors que le phénobarbital et l'aprobarbital ont une légère action dépressive.

Le penthiobarbital, au contraire, s'il exerce une potentialisation sur la contraction maximale, n'a pas d'effet déprimeur sélectif, car il diminue par augmentation des doses aussi bien les contractions directes qu'indirectes.

SECHER conclut donc que seuls les oxy-barbituriques ont un effet déprimeur sélectif sur la jonction neuromusculaire.

KRAATZ et coll. [182] étudient comparativement le mébubarbital et le barbiturique soufré correspondant, le penthiobarbital sur l'animal entier (Chien, Chat). La contraction isométrique du tibial antérieur, obtenue directement ou indirectement par stimulation à fréquences variables (de 0,1 à 400 par seconde) est enregistrée. Les deux barbituriques sont capables de potentialiser la secousse musculaire maximale, le penthiobarbital étant le plus actif. Cette potentialisation est moindre aux fréquences lentes et maximum sur un muscle fatigué (fréquences élevées). Elle

pourrait être provoquée par une diminution de la vitesse du processus contractile.

Aux plus fortes doses, le mébubarbital provoque une paralysie partielle qui n'est pas observée avec le dérivé soufré.

SIRNES [267], dans un important travail consacré aux effets des dérivés barbituriques sur le muscle strié de mammifères, arrive à des conclusions quelque peu différentes : ses expériences ont porté sur le *flexor digitorum longus* de Lapin *in situ* et sur la préparation nerf phrénique-diaphragme isolés de Rat.

A concentration relativement faible ou à des doses subnarcotiques chez l'animal entier, les dérivés barbituriques augmentent la hauteur de la contraction unique directe et indirecte, de façon identique ; cette potentialisation est fonction de la fréquence de stimulation : l'optimum se situe à 100 excitations par seconde. C'est la cellule musculaire elle-même qui est touchée, il y aurait prolongation du temps de contraction.

A concentration plus élevée ou à des doses narcotiques chez l'animal entier, cette augmentation est masquée par un bloc neuromusculaire simultané, sans action dépressive sur la contraction directe. L'activité musculaire et l'augmentation de la fréquence de stimulation favorisent ce bloc.

Enfin, des quantités encore plus élevées de barbituriques diminuent la réponse musculaire à la stimulation directe.

Tous les dérivés barbituriques possèdent de telles propriétés ; la seule différence observée est une plus forte action stimulante des dérivés soufrés.

Comment expliquer l'action stimulante des barbituriques, c'est-à-dire la potentialisation de la contraction maximale ?

GJONE [128] nous en fournit une explication. Il étudie sur le diaphragme de Rat et le tibial de Lapin *in situ*, le lieu et le mode d'action des dérivés barbituriques. Sans modifier l'excitabilité, le pouvoir réfractaire et la vitesse de propagation du potentiel d'action musculaire, ils prolongent l'état actif du muscle et accélèrent la vitesse du développement de la contraction. La membrane musculaire n'est pas atteinte, mais il y aurait inhibition des processus chimiques sous-jacents à la relaxation.

Comment alors expliquer le bloc neuromusculaire que produisent des doses narcotiques de barbituriques ?

Pour NAESS [222], les anesthésiques généraux (éther, chloroforme, barbituriques) exerceraient, au niveau de la plaque motrice une même action narcotique non spécifique.

Toutefois, plusieurs auteurs ont mis en évidence que les barbituriques diminuaient la sensibilité des récepteurs à l'acétylcholine :

— SIMONART et SIMONART [266] sur la contraction musculaire provoquée chez l'animal entier par l'acétylcholine ;

— EMMELIN [99] sur le *rectus abdominis* de Grenouille avec l'hexobarbital, TORDA et WOLFF [279] sur le *rectus abdominis* avec le pentobarbital et l'amobarbital ; GROSS et CULLEN [135] chez le Chien par injection d'acétylcholine avec le thiopental sodique.

— Enfin, KRAATZ et coll. [182] trouvent que le thiopental et le mébubarbital antagonisent l'action de l'acétylcholine sur le muscle de Chien.

Les barbituriques agiraient également sur la synthèse ou la libération de l'acétylcholine. TORDA et WOLFF [279] ont mis en évidence une diminution de la synthèse d'acétylcholine après action de barbituriques sur le cerveau de Grenouille. Pour BAIN [17], les barbituriques inhiberaient la synthèse de l'ATP et l'influence de l'ATP sur la synthèse de l'acétylcholine.

b) SUR LA CURARISATION :

Nous avons toujours observé, quelles que soient la dose et la nature du dérivé barbiturique, la profondeur de la curarisation, une recurarisation quand le barbiturique était administré après le curarisant.

A quoi peut-on attribuer cette recurarisation obtenue avec des doses de barbituriques insuffisantes pour exercer elles-mêmes un effet dépressur : il faut tout simplement admettre que les effets curariformes du dépressur s'additionnent à la curarisation ; certains auteurs les ont signalé d'autant plus nets que le muscle était plus fatigué.

Cette synergie *d*-TC-barbiturique, avait déjà été montrée chez le Chat par PICKS et RICHARDS [238] qui, sur l'animal entier, constatent qu'une dose de *d*-TC représentant 6 à 12 p. cent de la dose paralysante totale, était suffisante après administration de mébubarbital pour obtenir cette même paralysie totale (1).

PAULSON et coll. [233] retrouvent cette synergie chez le Chien et le Cobaye en utilisant le penthiobarbital, mais ils n'ont pas pu la mettre en évidence chez le Lapin.

Enfin, SIRNES [267] conclut chez le Lapin et sur le diaphragme isolé de Rat à une synergie entre *d*-TC et les barbituriques (mébubarbital - penthiobarbital) à des doses relativement faibles (semi-narcotiques pour le Lapin).

Ces deux derniers auteurs admettent pourtant une certaine restriction à cette synergie ; pour PAULSON et coll., elle n'existe que chez le Lapin avec le thiopental ; SIRNES trouve l'effet décurarisant plus marqué avec le thiopental, mais dans tous les cas inconstant et de courte durée.

Ceci rejoint nos observations d'antagonisme préventif sur le Lapin pour des doses moyennes de penthiobarbital et de *d*-TC. Nous n'avons

(1) Il nous paraît difficile sur l'animal entier de discerner ce qui revient à l'anesthésie générale et à la curarisation.

jamais pu mettre en évidence un antagonisme curatif avec le penthiobarbital et encore moins avec le mébubarbital.

Pourtant, d'autres auteurs ont parlé d'action décurarisante des barbituriques : LI et coll. [203] montrant l'apparition d'une dépression thoracique précoce chez les mammifères (Chien, Chat, Lapin) anesthésiés à l'éther ou au chloralose, après des doses faibles de *d*-TC, ne la retrouvent pas chez ces mêmes animaux anesthésiés au penthiobarbital ou autre barbiturique et concluent à une action anticurare des barbituriques.

Ces conclusions paraissent quelque peu hâtives, car aucune donnée expérimentale ne permet d'affirmer une action anticurare, même en la limitant aux seuls muscles intercostaux. Il nous semble plutôt que les barbituriques aient très peu d'effets sur la contraction de ces muscles et que l'éther, à action curarisante, et le chloralose, dépresseur respiratoire, produisent, après administration de *d*-TC, cette dépression thoracique précoce.

KRAATZ, GLUCKMANN et SHIELDS [183] et KRAATZ, GLUCKMANN [182] reconnaissent la synergie *d*-TC-mébubarbital sur le Chat et le Chien, mais admettent pour le penthiobarbital une action nettement antagoniste dans des conditions quelque peu particulières : il faut que la fréquence de stimulation soit lente et que la paralysie ne dépasse pas 30 p. cent de l'amplitude d'origine ; avec une curarisation plus profonde, aucun antagonisme ne peut être observé même en répétant les doses.

Analysant plus avant cette action, les auteurs ont stimulé un tibial de Chat partiellement curarisé, en envoyant toutes les 10 secondes une double décharge à une demi-seconde d'intervalle l'une de l'autre :

- avec le mébubarbital : recurarisation sur les 2 décharges ;
- avec le penthiobarbital : antagonisme sur la première,
recurarisation sur la deuxième.

Les auteurs concluent donc qu'il faut des excitations de fréquence très basse pour observer l'antagonisme.

Les auteurs insistent sur la différence entre l'effet stimulant propre du thiobarbiturique et son action antagoniste.

Nous n'avons jamais pu obtenir, dans nos conditions expérimentales, cet effet anticurare du penthiobarbital après *d*-TC. Nos fréquences d'excitation correspondent à celles des auteurs américains (6 par minute), mais deux différences fondamentales peuvent expliquer la divergence de nos résultats :

- nous avons travaillé sur le Lapin et non sur le Chat ;
- nous avons administré les deux produits par voie veineuse, alors que les auteurs américains les ont injecté dans l'artère fémorale de la patte en expérience.

Toutefois, sur la chute de la tête, ces mêmes auteurs ont trouvé une action protectrice nette des barbituriques oxygénés et soufrés vis-à-vis de la *d*-TC.

A la lumière de cette analyse bibliographique que pouvons-nous conclure de nos expériences ?

Les barbituriques oxygénés et soufrés injectés par la voie veineuse chez le Lapin après curarisation par la *d*-TC, exercent, quelle que soit la dose des premiers ou des deuxièmes, une action synergique sur le curarisant.

A titre préventif et pour des doses relativement faibles, le penthiobarbital s'oppose partiellement à l'action curarisante de la *d*-TC.

Nos expériences nous permettent de préférer à la position de KRAATZ et coll. [183] qui admettent une action anticurare nette du penthiobarbital, celle de SIRNES [267] qui, en raison de son inconstance et de ses limites, explique cette action par le simple effet stimulant de la contraction, particulièrement puissant dans le cas du penthiobarbital.

CONCLUSIONS

Peut-on dans les deux séries de l'hydantoïne et des barbituriques, trouver une action particulière des thio-dérivés sur la curarisation ?

Dans la série des hydantoïnes, il est possible de répondre nettement : deux dérivés de la dithiohydantoïne substitués par des radicaux légers — diméthyle et méthyléthyle — présentent contrairement à tous les autres dérivés étudiés des propriétés anticurarisantes sur le Lapin mais la présence des deux atomes de S n'est pas à elle seule suffisante pour obtenir cet effet.

Dans la série des barbituriques, les effets anticurares du thio-dérivé étudié sont trop faibles et inconstants pour qu'on les différencie de l'action stimulante de la contraction maximale que nous avons observée avec le penthiobarbital. Peut-être un dérivé plus riche en soufre et substitué par des radicaux légers nous permettrait-il d'admettre — comme dans le cas des dithiohydantoïnes — une action anticurare authentique.

CHAPITRE V

DERIVES ARSENICAUX

INTRODUCTION.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX :

- Thio-arsphénamine
- Néo-arsphénamine
- Arsphénamine
- Hectine
- Phénarsone sulfoxyate
- Acétarsol.

DISCUSSION DES RÉSULTATS :

- Influence du groupement soufré
- du poids moléculaire
- de la fonction arsenicale
- du pouvoir anticoagulant
- du pouvoir anticholinestérasique.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

La présence de groupements soufrés divers dans plusieurs molécules arsenicales organiques tréponemicides ou trypanocides, nous a incité à y rechercher une action antagoniste éventuelle de la curarisation.

Nous nous sommes adressé à des représentants des deux principaux groupes d'arsénicaux :

— Les arsphénamines ou dérivés arsénoïques dans lesquelles l'As est à l'état trivalent : la thio-arsphénamine (contenant 2 As et 2 S), la néo-arsphénamine contenant 2 As et 1 S) et l'arsphénamine (contenant 2 As et pas de S).

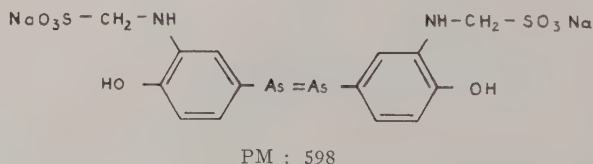
— Les phénylarsiniques dans lesquels l'As est à l'état pentavalent : l'hectine (contenant 1 As et 1 S), le phénarson sulfoxylate (contenant 1 As et 1 S) et enfin l'acétarsol (contenant 1 As et pas de S).

L'analyse des propriétés de ces corps nous permettra de faire une comparaison en fonction du poids moléculaire, du nombre et de l'état de l'atome de soufre, enfin de l'influence éventuelle de l'Arsenic.

RESULTATS EXPERIMENTAUX (1)

THIO-ARSPHÉNAMINE

ou sulfarsenobenzol ou diamino-dihydroxyarsénobenzène diméthylène sulfite de sodium.



A la dose de 50 mg/kg, la thio-arsphénamine n'exerce aucune action sur la contraction du tibial antérieur de Lapin excité par l'intermédiaire de son nerf.

Après curarisation, on observe pour cette même dose une reprise nette des contractions, qui n'est pas tout à fait totale dans la fig. 29 en raison de la profondeur de la paralysie ; d'ailleurs une deuxième injection de 50 mg/kg de thio-arsphénamine, non signalée dans cette figure, a permis à la contraction de reprendre son amplitude d'origine.

(1) Déjà partiellement publiés : J. CHEYMOL et coll. [70].

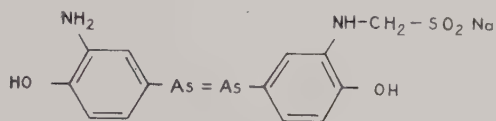
Avec une dose unique de 100 mg/kg, l'action est encore plus marquée.

Nous avons vérifié que cette propriété pouvait s'exercer également sur d'autres substances curarisantes (336 HC) ; ce qui nous permet de parler d'une action anticurarimimétique.

D'autre part, chez le Chat, l'action a été tout aussi nette sur le tibial mais un peu plus progressive sur le soléaire.

NÉO-ARSPHÉNAMINE

ou Novarsénobenzol * ou diamino-dihydroxy-arsénobenzène monométhylène sulfoxylate de sodium.



PM : 466

Sur la préparation neuromusculaire du Lapin, la néo-arsphénamine exerce une potentialisation de la contraction maximale. Cette potentialisation n'apparaît que pour des doses supérieures à 50 mg/kg.

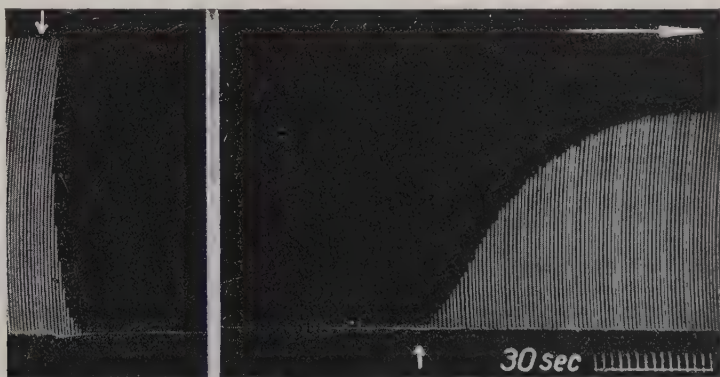


FIGURE 29.

Antagonisme d-tubocurarine/néo-arsphénamine sur la préparation nerf sciatique-tibial antérieur du Lapin.

A gauche ↓ : curarisation par la d-tubocurarine.

A droite ↑ : thio-arsphénamine 50 mg/kg.

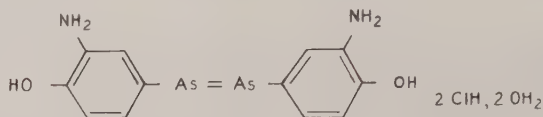
Ext. de [70].

Après curarisation par la d-tubocurarine (d-TC), la néo-arsphénamine à la dose de 50 mg/kg et mieux 100 mg/kg, est capable de ramener les contractions du tibial à leur amplitude d'origine ; par exemple dans la fig. 30, on peut voir la reprise franche et totale des contractions.

Cette action anticurarimimétique a été observée également chez le Chat ; comme dans le cas de la thio-arsphénamine, l'action est très nette sur le tibial, un peu plus progressive sur le soléaire.

ARSPHÉNAMINE

ou Arsénobenzol* ou Bichlorhydrate de diamino-dihydroxy-arsenobenzène.



PM : 475

Afin de pouvoir distinguer l'influence des groupements soufrés fixés sur la molécule d'arsphénamine, nous avons recherché si cette molécule non soufrée (théoriquement) possédait également des propriétés anticurarimimétiques.

Pour la solubilisation, nous avons suivi les indications du Codex 1937 ⁽¹⁾, les injections ont été poussées lentement. Malgré ces précautions, certaines injections ont entraîné la mort de l'animal.

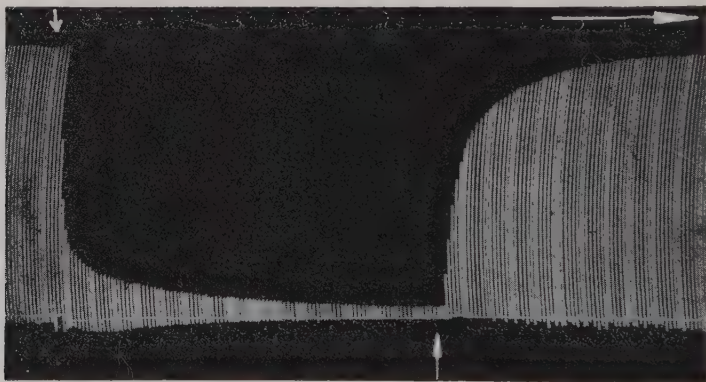


FIGURE 30.

Antagonisme d-tubocurarine/néo-arsphénamine sur la préparation nerf sciatique-tibial antérieur du Lapin.

A gauche ↓ : curarisation par la d-tubocurarine.

A droite ↑ : néo-arsphénamine

50 mg/kg.

Ext. de [70].

(1) Codex 1937, p. 263 : « Dans 10 ml d'eau bidistillée et stérile, dissolvez 1 g. de chlorhydrate de di-amino dihydroxy-arsenobenzène. Ajoutez peu à peu une quantité suffisante de solution N/5 de soude non carbonatée, ce qui nécessite environ 32.5 ml à 36 ml. Ajoutez ensuite de l'eau bidistillée en quantité suffisante pour obtenir une solution de chlorhydrate de diamino dihydroxy arsenobenzène à 2 p. cent qu'on doit utiliser immédiatement en la maintenant à 20° environ ».

Nous avons constaté que des doses de 100 mg/kg d'arsphénamine étaient capable de rétablir la transmission neuromusculaire bloquée par la *d*-TC chez le Lapin. Cette action est franche et totale comme le montre le tracé de la fig. 31.

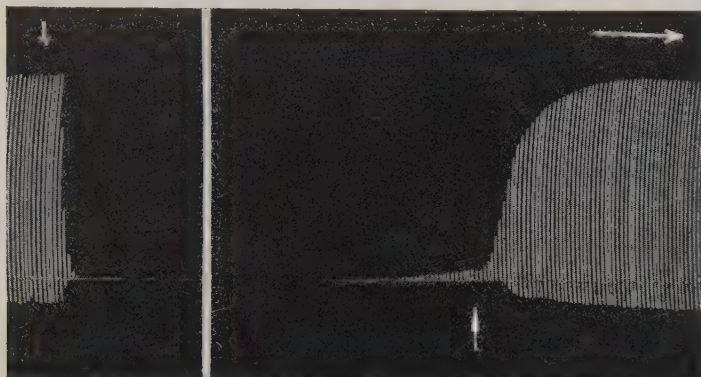


FIGURE 31.

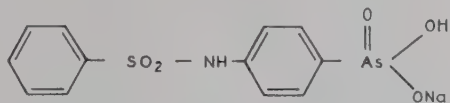
Antagonisme d-tubocurarine/arsphénamine sur la préparation nerf sciatique - tibial antérieur du Lapin.

A gauche ↓ : curarisation par la *d*-tubocurarine.
A droite ↑ : arsphénamine 100 mg/kg.

Ext. de [70].

HECTINE *

ou benzosulfone de para-amino phénylarsinate de sodium.



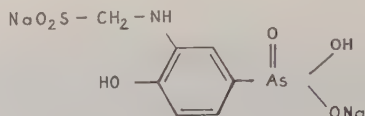
PM : 379

L'hectine aux doses de 100 et 200 mg/kg n'exerce aucune action sur la préparation neuromusculaire du Lapin.

Mais si l'hectine est administrée après curarisation par la *d*-TC, on observe une recurarisation : celle-ci est faible pour 100 mg/kg, mais beaucoup plus nette pour 200 mg/kg, comme le montrent les tracés des fig. 32 et 33. Dans le premier tracé, une faible curarisation de 40 p. cent est approfondie jusqu'à 95 p. cent.

PHÉNARSONE SULFOXYLATE

ou ALDARSONE * ou méthylène sulfoxyrate de m-amino p. hydroxy phénylarsinate de sodium.



PM : 346

Sur la préparation neuromusculaire du Lapin curarisé, le phénarsonne sulfoxyrate est sans effet aux doses de 20, 50 100 ou 200 mg/kg. Il faut de très fortes doses, 400 ou 500 mg/kg, pour obtenir une action antagoniste : cette action, d'autant plus nette que la curarisation a été moins profonde, est toutefois partielle et fugace. Dans la fig. 34, on retrouve la pente de retour spontané après l'effet passager du phénarsonne sulfoxyrate.

La néostigmine peut compléter le retour à la normale.

Nous avons vérifié qu'à ces doses élevées, le produit n'exerçait pratiquement aucune action propre sur la contraction musculaire : on observe simplement une très légère dépression qui n'est sûrement pas imputable à une action curarisante.

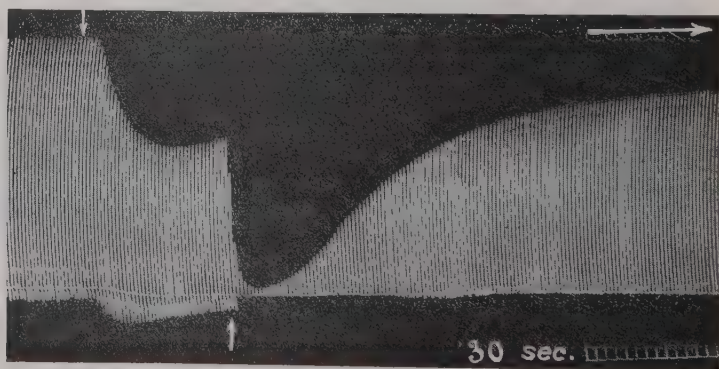


FIGURE 32.

*Potentialisation de la curarisation par l'heptine.
(préparation nerf sciatique-tibial antérieur du Lapin)*

En ↓ : curarisation par la d-tubocurarine.
En ↑ : heptine 200 mg/kg

Ext. de [70].

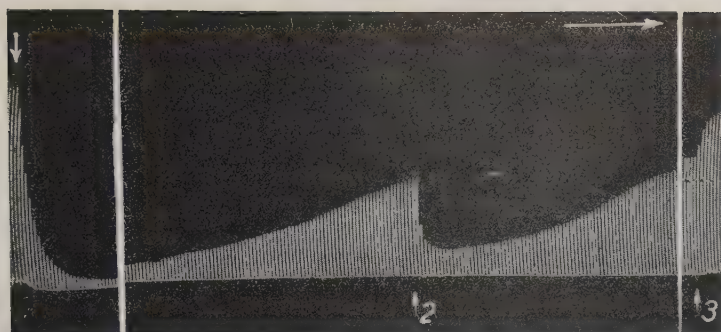


FIGURE 33.

Potentiation de la curarisation par l'heptine.

- En 1 ↓ : curarisation par la *d*-tubocurarine.
 En 2 ↑ : heptine 100 mg/kg
 En 3 ↑ : néostigmine 100 µg/kg

Ext. de [70].

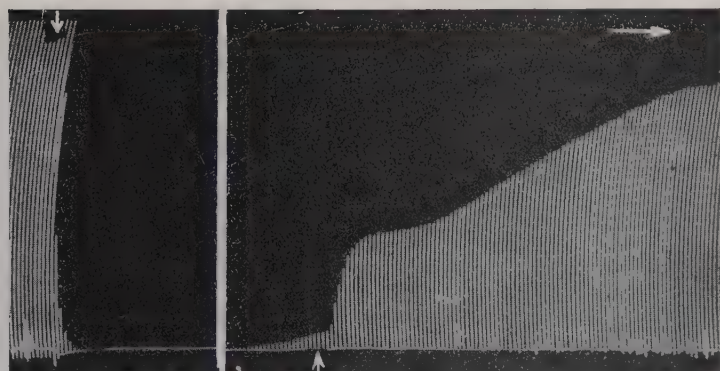


FIGURE 34.

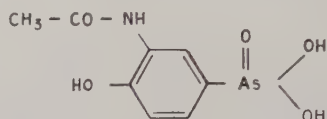
Antagonisme d-tubocurarine-phénarson sulfoxylyate sur la préparation nerf sciatique-tibial antérieur du Lapin.

- A gauche ↓ : curarisation par la *d*-tubocurarine. 400 mg/kg
 A droite ↑ : phénarson sulfoxylyate de sodium

Ext. de [70].

ACÉTARSOL

Stovarsol * ou acide m-acétylamino p. hydroxy phénylarsinique.



PM : 275

Nous avons utilisé la forme sodique contenant 23 p. 100 d'eau de cristallisation et qui donne une solution aqueuse très légèrement acide (pH 5.0), donc facilement injectable.

L'acétarsol sodique n'exerce qu'une faible action et à doses élevées (400 mg - 500 mg/kg) :

— sur la contraction normale du Lapin, on observe une très légère potentialisation de cette contraction ;

— sur la préparation curarisée, l'acétarsol sodique exerce une légère recurarisation ; cette recurarisation n'est pas due à des effets toxiques, car la néostigmine ramène les contractions à leur amplitude d'origine (fig. 35).

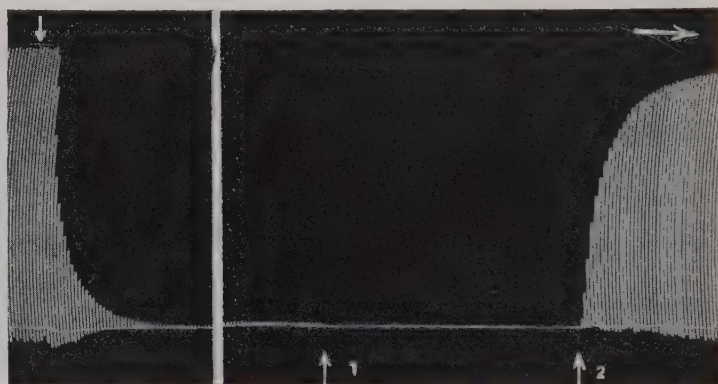


FIGURE 35.

Potentialisation de la curarisation par l'acétarsol sur la préparation nerf sciatique - muscle tibial antérieur de Lapin.

A gauche	↓	: curarisation par la d-tubocurarine.	
A droite	↑ ₁	: acétarsol	500 mg/kg
	↑ ₂	: néostigmine	100 µg/kg

Ext. de [70].

DISCUSSION DES RESULTATS

Ceux-ci ont été regroupés dans le tableau X.

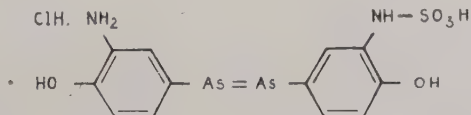
INFLUENCE DU GROUPEMENT SOUFRÉ.

Le fait le plus surprenant dans l'examen de ces résultats est l'activité de l'arsphénamine, molécule ne contenant théoriquement pas de soufre : il est vrai que cette activité exige une dose double de celle des produits voisins. Mais nous serions obligé de conclure que le groupement soufré n'est pas indispensable à l'activité anticurarimimétique, il la favoriserait simplement.

Toutefois, pratiquement il existe toujours dans les trois arsphénamines, du soufre en excès (voir tableau général X) et même l'arsphénamine peut en contenir jusqu'à 6 p. cent, la pharmacopée française exigeant une teneur inférieure à 3 p. cent (Codex 1937).

Ce soufre pourrait se trouver sous deux formes (BRETEAU P. [32] et KING H. [174-175]) :

— soit sous la forme sulfamate : on aurait dans l'échantillon, à côté de bichlorhydrate de la base, le composé suivant :



or nous verrons que ce groupement sulfamate dans d'autres molécules (héparine) favorise l'activité anticurarimimétique ;

— soit méthylène sulfoxyate, c'est-à-dire que l'arsphénamine contiendrait une certaine proportion de néo-arsphénamine.

Un doute important persiste donc sur la conclusion à laquelle nous étions amené au début de ce paragraphe : le soufre a d'ailleurs été dosé dans l'échantillon que nous avons utilisé, il est conforme au Codex, sa teneur étant inférieure à 3 p. cent.

Par ailleurs, la forme sous laquelle est engagée le soufre dans les deux autres arsphénamines ne semble pas changer beaucoup l'activité.

Par contre, dans la série des arsénicaux organiques à As pentavalent, seul est doué d'une activité anticurarimimétique — d'ailleurs faible — le phénarsone sulfoxyate, alors que l'acétarsol, molécule très voisine non soufrée, est pratiquement sans action ; le groupement soufré semblerait donc indispensable. Mais dans l'hectine, il y a également un groupement

soufré — et la molécule est au contraire potentialisatrice de la curarisation : nous pouvons remarquer à ce sujet que l'hectine possède la fonction sulfonamide, dont la présence, nous l'avons vu, communique à la molécule un effet potentialisateur de la curarisation. Nous en avons ici un nouvel exemple.

INFLUENCE DU POIDS MOLÉCULAIRE.

La comparaison entre les deux séries arsénoïques et arsiniques nous permet de dire que si le poids moléculaire n'est pas déterminant, un poids moléculaire élevé favorise l'activité anticurarimimétique : la néo-arsphénamine de PM : 466 possède une activité plus nette et à doses plus faibles que le phénarsone sulfoxylate de PM : 346.

INFLUENCE DE LA FONCTION ARSENICALE.

La néo-arsphénamine potentialise la contraction maximale du tibial antérieur de Lapin. Cette propriété est à rapprocher des observations de GERNAY et LECOMTE [123] et de PICK et HOLLAND [237] sur le *rectus abdominis* de Grenouille ; ces derniers auteurs utilisent les propriétés stimulantes, contracturantes de la néo-arsphénamine qu'ils considèrent comme « poison » du muscle strié.

Ces propriétés stimulantes n'ont pas été retrouvées avec la thio-arsphénamine. Il semble toutefois difficile de ne pas les lier à la présence d'un atome d'As. Elles pourraient en tout cas expliquer la reprise des contractions musculaires inhibées par le curare après administration de néo-arsphénamine.

Peut-on admettre un mécanisme semblable pour les autres arsénoïques, alors qu'ils paraissent dépourvus de propriétés stimulantes de la contraction maximale ? Rien dans nos expériences ne nous autorise à répondre par l'affirmative.

Doit-on alors lier les propriétés antagonistes des dérivés arsénoïques à la présence de groupements soufrés ? Là encore persiste un doute, puisque l'arsphénamine — théoriquement non soufrée — est susceptible d'en contenir.

Pour les dérivés arsiniques le groupement — As O³ H² ne semble pas jouer de rôle dans l'action anticurare, si le phénarsone sulfoxylate est actif, les deux autres molécules sont soit inactives, soit potentialisatrices.

POUVOIR ANTICOAGULANT.

Le rapprochement que nous pourrions faire ultérieurement, entre l'activité anticurarimimétique et l'activité anticoagulante dans plusieurs molécules est déjà ici, à noter.

TABLEAU X

Rapport Constitution - Action des dérivés arsénicaux organiques étudiés

	P. M.	Teneur en S. p. cent		Groupement soufré	Groupement As	Autres Fonctions	POUVOIR		
		théorique	tolérée				anti-coagulant	anticholine estérasique	anti-curare
Thio-Arsphénamine	598	10,7	<15	2 sulfonates	III 2 As	2-NH 2-OH	+	0	+
Néo-Arsphénamine	466	6,9	<12	1 sulfoxyate	III 2 As	2-NH 2-OH	+	0	+
Arsphénamine	475	0	< 3	0	III 2 As	2-NH 2-OH	±	?	±
Hectine	379	8,4		1 sulfonamide	V 1 As	amide	0	?	—
Phénarson-Sulfoxyate ..	346	9,2		1 sulfoxyate	V 1 As	1-OH 1-NH	?	?	+
Acétarsol	275	0		0	V 1 As	1-OH 1-acétamide	?	+	0

En effet, les différents travaux que nous avons retrouvés à ce sujet dans la littérature (FLANDIN Ch. et TZANK A. [116-117], LAUNOY L. [200], TZANK A. [281], GOLDIE H. [134] montrent que la thio-arsphénamine est la plus active, que la néo-arsphénamine est également anticoagulante mais plus faiblement, et que l'arsphénamine l'est peu ou pas (peut-être en fonction de sa teneur en soufre). L'hectine n'est pas anticoagulante et, à notre connaissance, on n'a pas signalé de telles propriétés pour le phénarsone sulfoxylate et pour l'acétarsol.

On peut donc admettre un parallélisme entre propriétés anticoagulantes et anticurares dans la série des arsenicaux, comme dans la série des héparines et héparinoïdes de synthèse (voir p. 202).

POUVOIR ANTICHOLINESTÉASIQUE.

Peut-on invoquer un pouvoir anticholinestérasique pour expliquer l'action antagoniste du curare ? Nos expériences ⁽¹⁾, qui rejoignent d'ailleurs celles de VINCENT et BRYGOO [288] et de DHELLEMES [94], ont montré que la thio-arsphénamine et la néo-arsphénamine sont dénuées de toutes propriétés anti-estérasiques, alors que l'acétarsol, lui, serait actif.

La comparaison des deux activités nous permet facilement de conclure que l'activité anticurare ne peut être expliquée par une inhibition de la cholinestérase.

CONCLUSIONS

Comment expliquer alors les propriétés antagonistes observées avec quelques dérivés arsenicaux soufrés ?

EAGLE et DOAK [97], dans une revue sur l'activité biologique des arsénobenzènes, admettent que les arsénicaux n'exercent leurs effets cytotoxiques qu'en fonction de leur fixation sur les constituants cellulaires. Il est vrai que les arsphénamines et les arsiniques doivent avant d'agir se transformer en arsénioxydes qui, eux, se combineront aux groupements sulphydrylés des protéines enzymatiques essentielles.

(1) Sur la pseudo-cholinestérase du sérum sanguin. Technique de HALL et LUCAS (p. 95).

Ces phénomènes impliquent une action lente, or nous avons vu que l'antagonisme était quasi instantané. L'hypothèse d'une action sur les constituants cellulaires de la jonction neuromusculaire ou du muscle ⁽¹⁾ n'est donc pas totalement satisfaisante et ne différencie pas les actions des arsenicaux soufrés et non soufrés.

Faut-il alors impliquer une réaction entre arsenical et curarisant ? Pour tenter de répondre à cette question, nous avons pratiqué des expériences de combinaison *in vitro* entre la néo-arsphénamine et la *d*-tubocurarine en milieu tampon pH 7,4.

Si on admet la combinaison d'un groupement sulfoxylate et d'un groupement ammonium quaternaire, il faudrait deux molécules de néo-arsphénamine pour une de *d*-tubocurarine : rapport molaire 2-1.

En solution tampon, phosphate M/15 de pH 7,4, nous avons réalisé les rapports molaires 2-1 et 4-1, rapportés à une concentration en *d*-tubocurarine de 0,1 mg/ml (10^{-4}).

On observe un précipité instantané pour le rapport molaire 2-1 ; la précipitation est plus abondante pour le rapport 4-1 (des témoins ne contenant que la *d*-tubocurarine ou la néo-arsphénamine sont restés limpides).

Si on augmente la proportion de néo-arsphénamine, le précipité augmente mais pour un large excès le précipité se redissout (rapport molaire 75-1). La néo-arsphénamine est donc capable de former avec la *d*-tubocurarine une combinaison.

Nous pouvons donc expliquer par ce mécanisme physique de combinaison avec le curarisant, les propriétés physiologiques d'antagonisme de la curarisation ⁽²⁾ : les molécules de curarisant fixées sur les récepteurs spécifiques de la plaque motrice sont captées par les molécules d'arsphénamine, l'acétylcholine peut alors exercer normalement son office de transmetteur de l'influx moteur.

Ce n'est peut-être pas par ce seul mécanisme que s'exerce l'action anticurare, mais il doit certainement intervenir.

(1) Action correspondant aux effets stimulants évoqués p. 184.

(2) Le mécanisme sera évoqué pour expliquer les effets antagonistes de certains colorants (voir p. 239).

CHAPITRE VI

MOLECULES POLYSULFONEES

INTRODUCTION.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX :

Héparine
Dextrarine
Tréburon
Liquoïde
Négatol.

DISCUSSION DES RÉSULTATS :

Propriétés anticholinestérasiques
Poids moléculaire.
Structure :
— chaîne polymérisée,
— groupements soufrés.
Expériences *in vitro*.

CONCLUSIONS.

PETROFF, dans ses diverses publications [234-235] sur l'action anticurare de certaines substances colorées ou colorantes, avait signalé l'importance du poids moléculaire de ces molécules ; les plus grosses, en effet, présentaient dans la série qu'il avait étudiée, les actions les plus nettes.

Plus tard, il a été montré que d'autres grosses molécules, colorées ou non, comme par exemple la suramine sodique (MORANYL * - GERMANINE *) possédant plusieurs radicaux sulfonés, présentaient de telles propriétés antagonistes vis-à-vis des curarisants. Il était remarquable de noter que toutes ces substances possédaient en commun une activité inhibitrice de la coagulation.

C'est pourquoi, nous avons été conduit à rechercher des propriétés anticurares dans l'héparine et différents héparinoïdes de synthèse (1) : substances de poids moléculaire élevé, polysulfonées et anticoagulantes.

Nous avons ainsi étudié en dehors de l'héparine, deux héparinoïdes de synthèse : la Dextrarine * et le Tréburon * et deux molécules aromatiques sulfonées polymérisées douées de propriétés anticoagulantes : le Liquoïde * (ou poly-anéthol-disulfonate de sodium) et le Négatol * (acide dioxy-diméthyl-diphényl méthane disulfonique polymérisé).

Une telle hypothèse de travail avait déjà guidé deux auteurs italiens, FERRARI et VECCHIATI (2) [113], dans leurs recherches de molécules anticurarisantes, mais ils trouvèrent au contraire après traitement par l'héparine ou le liquoïde, les animaux plus sensibles au curare.

Toutefois, nos résultats expérimentaux infirment les conclusions de ces deux auteurs et permettent ainsi de mettre en évidence les propriétés anticurares recherchées dans cette série de substances.

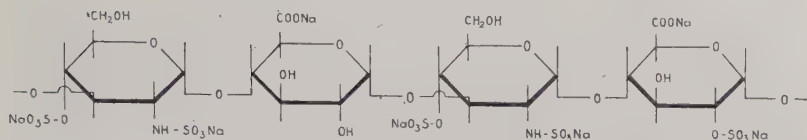
Nous venons, récemment, de prendre connaissance d'un important travail de H. GRUNDFEST [139] sur les phénomènes bio-électriques dans lequel il signale un antagonisme *d*-tubocurarine-héparine dans des expériences de blocage au niveau de certaines synapses cérébrales.

(1) Les héparinoïdes de synthèse sont généralement obtenus par estérification sulfurique de certains polysaccharides : cellulose, glycogène, chitine acétylée, lignine... Ainsi à partir de l'acide alginique (polymère de l'acide mannuronique) est obtenu le Paritol * ; à partir de l'acide pectique (polymère de l'acide galacturonique) est obtenu le Tréburon * ; à partir du dextran (polymère synthétique de glucose) est obtenu la Dextrarine ; enfin à partir d'un polymère du xylane, on a pu préparer le Thrombocid *. Pour un aperçu chimique de ces substances, voir l'article de R. CAVIER [52].

(2) Nous n'avons pas pu, à notre grand regret, nous procurer cette communication et nous n'en connaissons que la référence et les quelques mots cités dans un article ultérieur de FERRARI et COSTA [111].

RESULTATS EXPERIMENTAUX (1)

HÉPARINE



PM : 12.000 à 17.000

Formule de WOLFROM citée par A. WINTERSTEIN [296].

La structure et le degré de polymérisation de l'héparine ne sont pas encore définis avec certitude : on peut toutefois dire que son noyau élémentaire est constitué par une combinaison équimoléculaire de glucosamine et d'acide glycuronique unis par une liaison glucosidique formant un di-saccharide : la mucoïtine. L'héparine résulte de la polymérisation d'esters sulfuriques de la mucoïtine : elle contient à peu près 40 p. 100 d'ions sulfuriques, qui lui confèrent une forte charge électronégative. Ces groupements soufrés seraient soit sous la forme esters, soit sous la forme sulfamates.

De nombreuses revues sur l'héparine ont déjà été publiées : citons les plus récentes (A. WINTERSTEIN [296], R. CAVIER [52]).

Nous avons essayé, lors de notre travail, la plupart des échantillons que l'on peut trouver à l'heure actuelle dans le commerce.

Sur la préparation neuromusculaire sciatique-tibial antérieur du Lapin, curarisée par la *d*-tubocurarine (*d*-TC), l'héparine, aux doses de 1 à 25 mg/kg, n'exerce aucune action.

Mais si on augmente les doses (50 à 100 mg/kg), on observe un antagonisme net de la curarisation ; le retour ne s'effectue pas toujours jusqu'au niveau d'origine, mais après paralysie complète, on peut atteindre une amplitude représentant suivant les cas 70 à 90 p. cent de l'amplitude de départ (fig. 36).

Par répétition des injections, nous avons constaté une addition des effets, mais sans toutefois obtenir un retour complet à la normale ; celui-ci a été réalisé par administration de néostigmine (fig. 37).

Nous devons donc admettre une certaine limite à l'effet anticurare de l'héparine.

Cette limite existe également quand on injecte simultanément l'héparine et la *d*-TC : en effet, une dose de 420 µg/kg de *d*-TC qui conduit

(1) Déjà partiellement publiés [68-69].

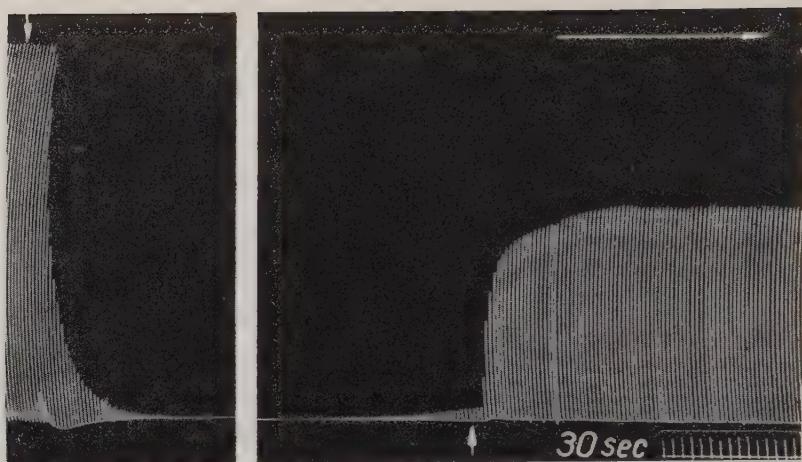


FIGURE 36.

Antagonisme d-tubocurarine-héparine sur la préparation nerf sciatique - tibial antérieur du Lapin.

En ↓	: curarisation par la d-tubocurarine	500 µg/kg
En ↑	: héparine	100 mg/kg

Ext. de [68-69].

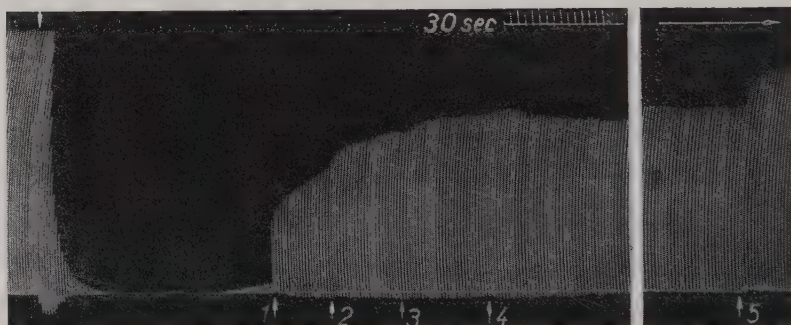


FIGURE 37.

Antagonisme d-tubocurarine-héparine sur la préparation nerf sciatique - tibial antérieur du Lapin.

En ↓	: curarisation par la d-tubocurarine	450 µg/kg
En ↑ 1-2-3-4	: héparine	50 mg/kg
En ↑ ₅	: néostigmine	100 µg/kg

Ext. de [68-69].

(Cliché réduit de 14 à 10,5 cm.)

généralement à un arrêt complet des contractions, ne provoque qu'une paralysie de 50 p. cent quand on administre en même temps 100 mg/kg d'héparine. Par augmentation de la quantité d'héparine, on ne parvient pratiquement pas à diminuer ce taux de paralysie, toutefois celle-ci semble s'établir plus lentement.

Avec un autre curarisant du type curarimimétique, le 336 HC : nous avons pu obtenir avec 100 mg/kg d'héparine, une reprise totale des contractions jusqu'au niveau d'origine, ce qui nous permet de généraliser l'effet antagoniste de l'héparine aux substances curarimimétiques chez le Lapin.

Par contre, sur le Chat, l'héparine après curarisation par la *d*-TC ne présente plus ces effets antagonistes, on observe au contraire une très légère potentialisation de la paralysie. Cette potentialisation s'observe également chez le Chat après action de molécules du type acétylcholinomimétique (606 HC).

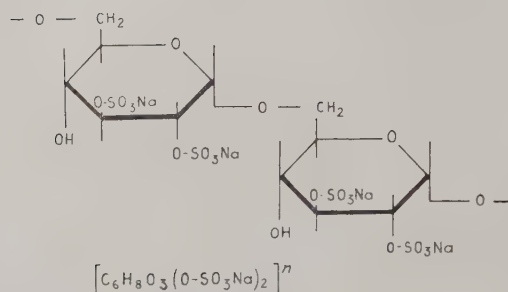
Nous avons voulu vérifier si le sulfate de protamine, substance protéique à caractère basique, connu pour ses propriétés inhibitrices des effets anticoagulants de l'héparine, était susceptible de s'opposer à ses effets sur la curarisation. Pour cela, utilisant sur le Lapin le même type d'expériences que précédemment, nous avons administré juste avant l'héparine, des doses de sulfate de protamine variant de 50 mg/kg à 75 mg/kg (1) : l'effet antagoniste est pratiquement supprimé ; toutefois, par répétition des doses d'héparine, on observe une reprise légère des contractions, mais celle-ci est encore faible.

Le mélange extemporané de sulfate de protamine (75 mg/kg) et d'héparine (50 mg/kg) est sans effet sur la curarisation ; avec une dose moindre de protamine (50 mg/kg) et la même dose d'héparine, l'effet antagoniste n'est que partiel et fugace. De même, en injectant le filtrat du mélange sulfate de protamine (75 mg/kg) - héparine (50 mg/kg), l'effet est encore faible et fugace.

Il nous est donc permis de conclure que ces propriétés inhibitrices du sulfate de protamine vis-à-vis de l'héparine peuvent être généralisées : elles résultent de la saturation des charges électro-négatives qui inactive ainsi la molécule.

(1) Le sulfate de protamine est dépourvu de tout effet anticurarimimétique, au contraire il entraîne une légère potentialisation de la curarisation.

DEXTRARINE *



PM : environ 7.000

La dextrarine est un héparinoïde de synthèse de PM relativement faible, résultant de l'estérification par l'acide sulfurique d'un polymère synthétique du glucose, le dextran. L'étude des différents sulfates de dextran a été faite par RICKETTS [250].

Comme l'héparine, la dextrarine présente une action antagoniste nette de la *d*-TC chez le Lapin, mais celle-ci est limitée et fugace ; elle exige des doses plus élevées (100 à 200 mg/kg) : en effet, les contractions musculaires, après avoir atteint un maximum de 70-80 p. cent de l'amplitude d'origine, diminuent progressivement ; à ce moment une deuxième injection de dextrarine entraîne une nouvelle reprise de ces contractions mais moins forte. Il ne peut s'agir d'effets toxiques sur l'animal ou sur la préparation, car la néostigmine est capable de rétablir la contraction normale. La fig. 38 illustre cette expérience au cours de laquelle nous avons pu vérifier que le dextran lui-même n'exerçait aucune action sur la préparation ; les groupements électronégatifs sont donc bien, comme nous le supposons, responsables de cette action antagoniste.

Comme pour l'héparine, le sulfate de protamine neutralise molécule à molécule l'action anticoagulante de la dextrarine ; il s'est avéré capable également de s'opposer aux effets anticuraires de cet héparinoïde : l'injection, une minute avant la dextrarine, de 100 mg/kg de sulfate de protamine supprime totalement l'effet antagoniste, même si les injections de dextrarine sont plusieurs fois répétées.

Le Chat, comme pour l'héparine, présente une sensibilité tout à fait différente : après action de la dextrarine (80 à 120 mg/kg) au moment où les contractions musculaires reprennent spontanément après curarisation par la *d*-TC, on constate une recurarisation légère mais indéniable.

Comme pour l'héparine, nos conclusions se limitent au Lapin.

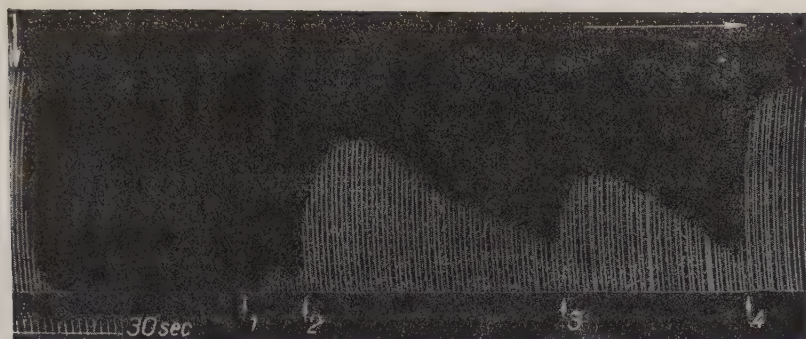


FIGURE 38.

Antagonisme d-tubocurarine-dextrarine sur la préparation nerf sciatique-tibial antérieur du Lapin.

En	↓	: curarisation par la d-tubocurarine	350 µg/kg
En	↑ ₁	: dextran	120 mg/kg
En	↑ ₂₋₃	: Dextrarine	200 mg/kg
En	↑ ₄	: néostigmine	100 µg/kg

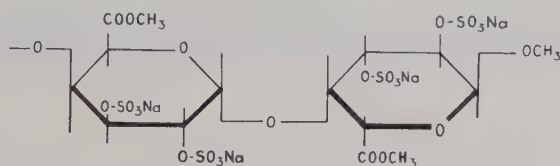
Ext. de [68-69].

(Cliché réduit de 14 à 10,5 cm).

TRÉBURON *

Le tréburon est un héparinoïde synthétique étudié par G. TAUBMANN et G. WINKLER [272] et MANGIERI et coll. [209].

C'est l'ester polysulfurique du méthylglucoside de l'ester méthylique d'un acide polygalacturonique : il est préparé à partir de l'acide pectique.



PM : 5.800 à 6.000

Sur la préparation neuromusculaire du Lapin, le Tréburon se comporte de façon identique à la Dextrarine. Nous avons étudié son action dans des expériences du même type, mais sans attendre la baisse secondaire des contractions, nous injectons au maximum de l'amplitude, une nouvelle dose de Tréburon. Les augmentations d'amplitude successives sont bien proportionnelles aux doses, comme on peut le voir dans la fig. 39, en 1, 3, 4, 5 pour 100 mg/kg et en 2 pour 200 mg/kg, mais

alors que la première reprise se maintient en palier, les autres sont suivies d'une décroissance de plus en plus accentuée. Après une diminution considérable d'amplitude, une injection de 100 mg/kg de néostigmine nous montre que la préparation est encore intacte. La diminution secondaire des contractions n'est donc pas due à des effets toxiques mais constitue un aspect caractéristique de l'action du Tréburon.

Cette dernière expérience permet une comparaison entre Tréburon et héparine : en effet, dans la fig. 37, nous avons constaté les effets additifs de doses injectées d'héparine, mais avec persistance des effets.

Nous pouvons donc conclure que l'action anticurare de la Dextrarine et du Tréburon est — comme celle de l'héparine — partielle seulement, mais à la différence de cette dernière, elle est fugace.

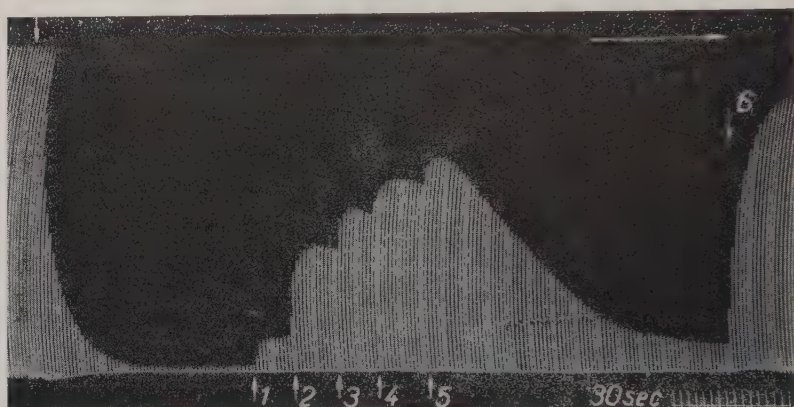


FIGURE 39.

Antagonisme d-tubocurarine-Tréburon sur la préparation nerf sciatique - tibial antérieur du Lapin.

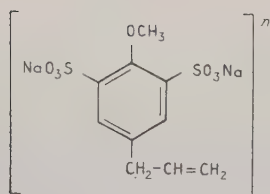
En	↓	: curarisation par d-tubocurarine	450 µg/kg
En	↑	1-3-4-5 : Tréburon	100 mg/kg
En	↑	2 : Tréburon	200 mg/kg
En	↓	6 : néostigmine	100 µg/kg

Ext. de [68-69].

(Cliché réduit de 13 à 10,5 cm)

LIQUOÏDE *

Le liquoïde * ou poly-anéthol disulfonate de sodium est une substance anticoagulante anciennement connue mais dont l'emploi thérapeutique a été abandonné en raison de sa toxicité élevée. Cette toxicité a gêné notre expérimentation, mais nous avons toutefois pu mettre en évidence une action antagoniste de la d-TC. Dans la fig. 40, après action du curarisant,



PM : 10.000

une injection de 50 mg/kg de Liquoïde conduit à une reprise nette mais fugace des contractions. La néostigmine injectée quelques minutes après, montre que le maximum de reprise n'était pas atteint, mais surtout, que la préparation avait subi les effets toxiques du produit ; l'animal, d'ailleurs, est mort quelques instants plus tard.

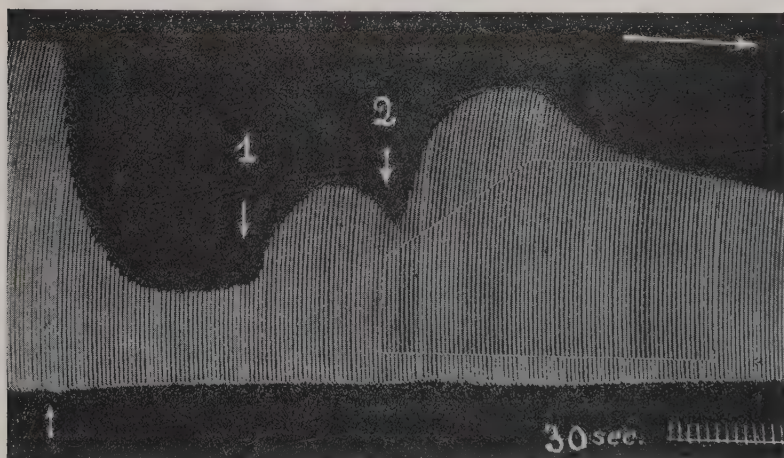


FIGURE 40.

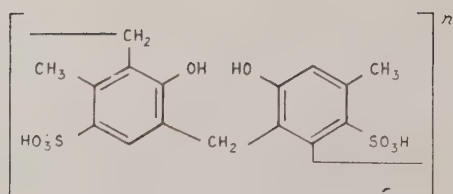
Antagonisme d-tubocurarine-liquoïde sur la préparation nerf sciatique-tibial antérieur du Lapin.

En	↑	: curarisation par la d-tubocurarine	500 µg/kg
En	↓ ₁	: liquoïde	50 mg/kg
En	↓ ₂	: néostigmine	100 µg/kg

Ext. de [68].

NÉGATOL *

Le Négatol est un polymère de l'acide dioxy-diméthyl diphenyl-méthane disulfonique.



PM : 1.500

La solution aqueuse de Négatol est très acide (pH 0,6), cependant après dilution, il est possible de faire des injections intraveineuses lentes. A la fin de quelques-unes de nos expériences, nous avons observé, après injections répétées de Négatol, la mort par œdème pulmonaire. Pour vérifier quelle pouvait être l'incidence de cette acidité sur nos expériences, nous avons doublé chacune de celle-ci, en utilisant du Négatol neutralisé extemporanément ⁽¹⁾ par la soude, mieux toléré par l'animal.

Sur la contraction du tibial antérieur de Lapin stimulé par son nerf moteur, le Négatol à 50, 100, 150 mg/kg ne présente aucun effet.

Sur la même préparation curarisée par la *d*-TC, le Négatol, injecté au début de la reprise spontanée, provoque une recurarisation, c'est-à-dire qu'elle potentialise le curarisant. La préparation elle-même n'est pas atteinte, car la néostigmine assure un retour jusqu'à l'amplitude d'origine. La fig. 41 montre cette action avec le Négatol acide et le Négatol neutralisé.

Mais par injections préalables répétées, de Négatol (3 injections de 50 mg/kg en 50 minutes), la dose de *d*-TC qui produirait normalement une paralysie complète est antagonisée soit partiellement, soit totalement suivant les cas.

Sur un animal ainsi « saturé » de Négatol, l'antagonisme est beaucoup plus net quand une injection supplémentaire est faite au début de la reprise spontanée des contractions paralysées par une forte dose de *d*-TC. La fig. 42 montre la restauration totale et rapide de la transmission neuromusculaire par le Négatol.

(1) La solution neutralisée floccule à la longue.

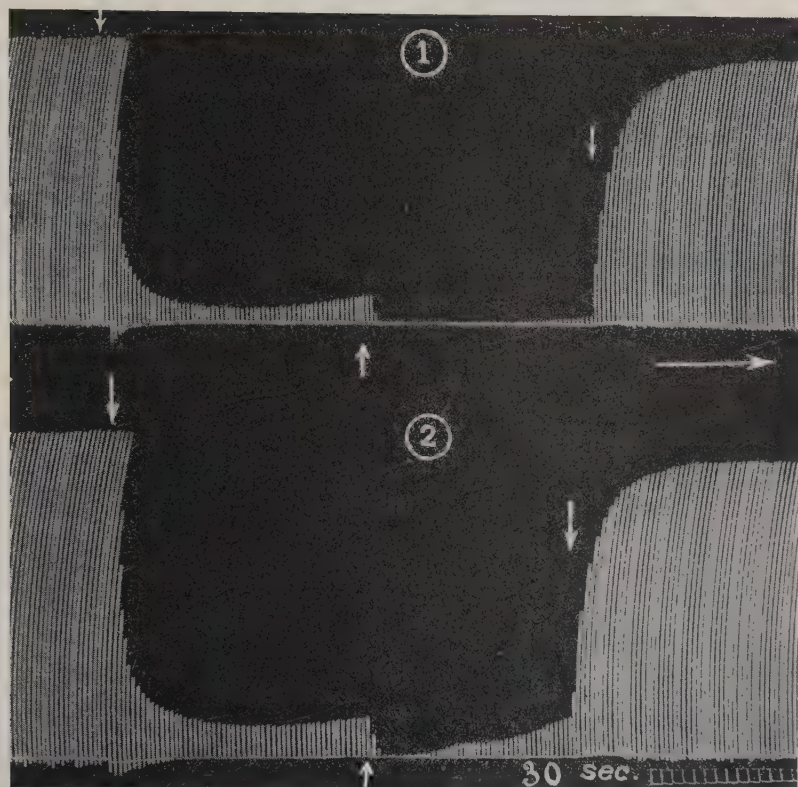


FIGURE 41.

*Potentialisation de la curarisation par administration unique de Négatol.
(préparation nerf sciatique - muscle tibial antérieur du Lapin).*

A gauche en	↓	: curarisations par <i>d</i> -tubocurarine	450 µg/kg
Au milieu en	↑ ₁	: Négatol neutralisé	50 mg/kg
en	↑ ₂	: Négatol non neutralisé	50 mg/kg
A droite en	↓	: néostigmine	100 µg/kg

Ext. de [68].

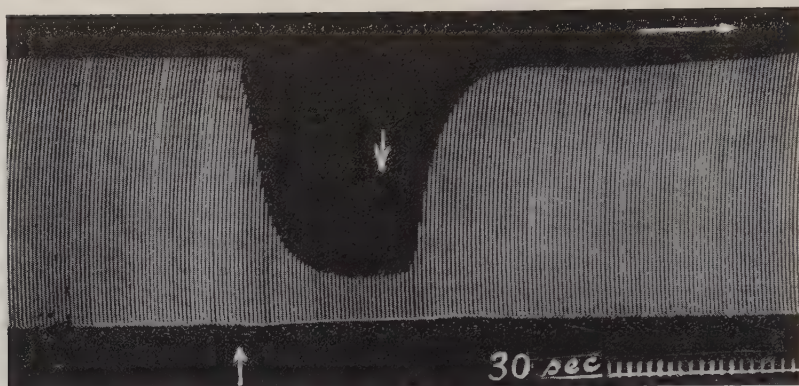


FIGURE 42.

Antagonisme d-tubocurarine-Négatol sur la préparation nerf sciatique - tibial antérieur du Lapin après administrations répétées de Négatol.

En $\uparrow$: curarisation par la d-tubocurarine 430 $\mu\text{g/kg}$
après injections de Négatol 150 mg/kg en 3 fois en 50 min.

En $\downarrow$: Négatol 50 mg/kg

Ext. de [68].

DISCUSSION DES RESULTATS

Les cinq molécules anticoagulantes que nous avons essayées présentent donc une action anticurarimimétique nette sur le Lapin (voir tableau XI). Les doses actives sont élevées et bien supérieures aux doses anticoagulantes mais sauf dans le cas du liquoïde, elles sont inférieures aux doses toxiques pour l'animal.

A quoi peut-on attribuer cette action anticurare ?

PROPRIÉTÉS ANTICHOLINESTÉRASIQUES.

Nous avons essayé de mettre en évidence de telles propriétés sur la pseudo-cholinestérase du sérum humain par la technique de G. E. HALL et C. C. LUCAS ⁽¹⁾. Mais aucune de ces molécules n'a inhibé la préparation enzymatique. Cette explication est donc à rejeter.

POIDS MOLÉCULAIRE.

Les chiffres qui ont été donnés, à côté de chaque formule, sont plutôt un ordre de grandeur, car ils dépendent du degré de polymérisation de

(1) Voir p. 95.

TABLEAU XI

Rapport Constitution - Action des différentes molécules polysulfonées étudiées

	Elément polymérisé	Groupements chimiques	Poids moléculaire	Action anti-coagulante	Inhibiteur	Action anticurare
Héparine ...	Glucosamine + ac. glycuronique	— Ester sulfurique — Sulfamates	17.000 à 12.000	+	Protamine	Nette Partielle Stable
Liquoïde ...	Anéthol	— Acide sulfonique — Méthoxy	10.000	+	Protamine	Limitée par la toxicité
Dextrarine ...	Glucose	— Ester sulfurique	7.000	+	Protamine	Partielle Fugace
Tréburon ...	Acide galacturonique	Ester sulfurique — Ester méthylique	5.800 à 6.000	+	Protamine	Partielle Fugace
Négatol	Diphénylméthane	— Acide sulfonique — Phénol	> 1500	+	Protamine	Totale après saturation de l'organisme

ces molécules, dépendant lui-même le plus souvent du mode de préparation. Dans le cas de l'héparine — produit biologique — il existe de plus des variations selon l'origine animale.

Le poids moléculaire, s'il n'explique pas à lui seul le mode d'action, peut tout de même expliquer les nuances que nous avons observées entre les différents produits.

L'héparine — la plus grosse molécule — a un effet anticurare stable, alors que pour la Dextrarine et le Tréburon, de poids moléculaire environ moitié moindre, cet effet est relativement fugace.

Enfin, pour le négatol, une « saturation » préalable de l'animal est indispensable pour le mettre en évidence.

STRUCTURE.

Dans l'analyse des structures, nous ne pouvons tenir compte de la chaîne polymérisée constituant le squelette de chacune de ces molécules : la seule comparaison possible est que trois molécules possèdent des éléments polymérisés dérivés des sucres, deux possèdent des éléments aromatiques : ces derniers semblent d'ailleurs plus toxiques que les premiers.

Plus fructueuse est la comparaison des différents groupements soufrés fixés sur chacune des molécules : ces groupements peuvent exister sous trois formes :

- sulfamique,
- ester sulfurique,
- sulfonique.

La forme sulfonique semblerait capable d'un antagonisme total (Négatol), dans le cas du liquoïde les effets toxiques gênent un peu ces conclusions.

La forme sulfamique assurerait une action moins fugace (héparine) ; certains schémas de l'héparine ne comporteraient que des groupements sulfamates.

La forme ester sulfurique conduirait à des effets moins stables.

La présence de ces groupements soufrés fortement électronégatifs est indispensable à l'action de ces produits comme il l'a été montré dans le cas de la dextrarine.

Les essais d'inhibition par le sulfate de protamine en sont une preuve supplémentaire : en effet, l'action anticoagulante des cinq molécules étudiées a pu être neutralisée par cette substance protéique basique. Il en est de même pour l'action anticurare : comme nous l'avons montré pour l'héparine et la Dextrarine. L'intégrité de la charge électronégative est donc primordiale.

EXPÉRIENCES DE COMBINAISON « *in vitro* ».

D'autres expériences effectuées *in vitro* avec l'héparine pourraient fournir une explication aux propriétés que nous avons mises en évidence et montrer l'importance des groupements soufrés ; en effet, l'héparine et la *d*-TC sont capables de former une combinaison insoluble : à une solution neutre d'héparine (0,5 ml d'une solution à 50 mg/ml, soit 25 mg d'héparine en tout), on ajoute, goutte à goutte, une solution neutre de *d*-TC à 0,2 mg/ml ; on observe, d'abord, un trouble fugace qui se redissout jusqu'à addition d'environ 0,5 ml. Le précipité persiste ensuite et n'augmente pas quand le volume ajouté atteint 1 ml ou 1,2 ml. On peut donc conclure que 25 mg d'héparine sont capables de se combiner à 2,5 mg de *d*-TC ; quand la proportion est plus en faveur de l'héparine, le précipité se redissout : c'est d'ailleurs ce qui a été constaté en ajoutant la solution d'héparine à une solution de *d*-TC.

Nous avons vérifié sur l'animal si la précipitation était totale et si la combinaison était stable. Pour cela, on fait un mélange des deux solutions dans les proportions définies plus haut (25 mg d'héparine - 2,5 mg de *d*-TC) comme correspondant à un maximum de précipitation. Après centrifugation, une partie aliquote du liquide surnageant et d'une suspension du précipité (correspondant dans chaque cas à une dose théorique paralysant à 100 p. cent la préparation) est injectée à un lapin :

— Avec le liquide surnageant, on observe une curarisation qui varie de 20 à 50 p. cent, suivant les expériences ; la *d*-TC n'est donc pas totalement combinée.

— Avec le précipité, on observe une curarisation variant de 10 à 30 p. cent : la combinaison n'est donc pas très stable dans l'organisme.

Nous avons également essayé d'injecter un mélange contenant la *d*-TC (420 µg/kg) et un large excès d'héparine (100 à 200 mg/kg) : là encore une curarisation partielle apparaît.

La formation d'une combinaison curarisant-héparine peut donc fournir une explication satisfaisante des propriétés anticurares de l'héparine ⁽¹⁾.

Toutefois, comment expliquer que cette propriété n'ait pas été retrouvée chez le Chat ? Le sang de Chat serait-il capable de neutraliser rapidement les charges électronégatives de l'héparine : ceci ne semble pas possible, étant donné les doses énormes qui ont été administrées ; ou bien, l'attraction entre récepteur spécifique et curarisant est-elle si forte, chez le Chat, qu'elle soit capable de scinder la combinaison héparine-*d*-TC ?

Par ailleurs, l'action anticoagulante suppose que l'héparine soit capable de se combiner avec certaines substances protéiques, pourrait-elle ainsi agir au niveau de la plaque motrice ? CHAGAS ⁽²⁾ admettrait que la

(1) Voir explication des propriétés anticurares de certains colorants p. 239.

(2) Voir p. 29.

substance réceptrice de la plaque motrice possède une structure voisine de celle de l'héparine. D'autre part, la nécessité d'une saturation préalable de l'organisme par le Négatol suppose autre chose que la simple combinaison.

CONCLUSIONS

Cinq molécules polysulfonées de poids moléculaire élevé, douées de propriétés anticoagulantes, sont capables d'antagoniser chez le Lapin, la paralysie provoquée par administration d'un curarimimétique.

Si l'antagonisme est subtotal et stable avec l'héparine, il est généralement fugace avec le Tréburon et la Dextrarine. Les effets toxiques du liquoïde masquent partiellement son action décurarisante. Le négatol ne présente un antagonisme de la *d*-TC qu'après « saturation préalable de l'animal ».

Ces propriétés n'ont pas été retrouvées chez le Chat.

Les groupements électronégatifs sulfuriques ou sulfoniques doivent être libres pour que les molécules soient actives : en effet, le sulfate de protamine supprime leur action.

L'hypothèse d'une fixation sur certaines protéines de la jonction neuromusculaire peut être évoquée en raison des propriétés anticoagulantes de ces molécules. Toutefois, rien ne permet — à l'heure actuelle — de confirmer cette hypothèse.

L'héparine est capable de former avec les molécules de *d*-TC une combinaison insoluble relativement stable. La formation d'une telle combinaison pourrait expliquer l'action antagoniste de ces molécules polysulfonées : les molécules de curarisant seraient « arrachées » aux récepteurs spécifiques de la plaque motrice et rendues ainsi inactives. De la stabilité de la combinaison dépendrait la stabilité de l'effet anticurare.

CHAPITRE VII

MATIERES COLORANTES

INTRODUCTION.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX :

A. Composés naphthaléniques sulfonés :

Jaune de Martius S — Naphthionine — Glucoside de la naphthionine — N.A.D.S. — Est. 2 — Ecarlate G.N. — Ponceau S X — Amaranthe A.S. — Rouge Solide E — Est. 3 — Est. 4 — 98 E — Ponceau 4 R — Noir brillant B.N. — Rouge Congo — Rouge Trypan — Bleu Trypan — Bleu Evans — Afridol violet — Suramine sodique — Noir 5410.

B. Dérivés du triphénylméthane :

Phénolphtaléine — Tétra-iodo phénolphtaléine — Phénol tétrachlorophtaléine — Phénolsulfonephtaléine — Dibromophénolsulfonephtaléine — Tétrabromophénolsulfonephtaléine — Vert Guinée B — Violet acide 6 B — Bleu brillant F.C.F. — Vert Lumière.

DISCUSSION DES RÉSULTATS :

- 1° Influence du poids moléculaire.
- 2° Influence du nombre et de la position des groupements sulfonés.
- 3° Influence des autres fonctions.

ESSAI D'INTERPRÉTATION :

- 1° Combinaison avec les protéines.
- 2° Combinaison avec le curarisant.

CONCLUSIONS.

La possibilité de supprimer ou de diminuer les effets toxiques de divers « poisons » — et en particulier du curare — par l'administration de matières colorantes est connue depuis longtemps. Plusieurs études furent consacrées à cette propriété, sans que le mécanisme en soit totalement élucidé. Nous apportons, dans le présent chapitre, notre contribution à ce problème, par les résultats obtenus avec quelques molécules sulfonées choisies parmi les matières colorantes ou se rattachant à elles.

Définissons succinctement ce qu'est une matière colorante. Certains groupements dits *chromophores* ($-\text{NO}_2$, $-\text{N}=\text{N}$, etc...) sont susceptibles de donner une coloration à une molécule : cette substance colorée est appelée *chromogène*. La fixation de certains radicaux ionisables ou *auxochromes* ($-\text{OH}$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{NH}_2$...) fournit au chromogène une affinité pour les fibres textiles et les protéines, c'est-à-dire un *pouvoir colorant*.

Les molécules que nous avons étudiées contiennent, pour la plupart, au moins un radical auxochrome $-\text{SO}_3\text{H}$.

J. R. PETROFF [234-235] étudie l'action protectrice de différents colorants et substances colloïdales vis-à-vis du curare sur l'animal entier (Grenouille, Chien). Il apporte, le premier, la preuve expérimentale de l'antagonisme préventif, simultané ou curatif entre le curare et le rouge Congo, le bleu trypan, l'induline, la nigrosine, le bleu d'aniline, l'azoblu. Cette propriété serait liée à la grosseur moléculaire et à la nature colloïdale de ces molécules colorantes.

C. THIENES [274] confirme ces résultats sur la Grenouille : le rouge Congo est capable de prévenir ou de lever la paralysie par le curare. L'auteur admet une adsorption sélective du curare par le colorant due à sa nature colloïdale.

I. P. PETROV [236] apporte par des expériences *in vivo* sur la Grenouille et la Souris, et *in vitro*, un fait nouveau : l'effet protecteur serait dû à la formation d'un précipité et dépendrait de la stabilité de ce précipité.

C. J. KENSLER [172] fait une mise au point générale de ce problème : historique, bibliographie et abondants résultats expérimentaux sur la Grenouille, le *rectus abdominis* de Grenouille, les propriétés anticholinestérasiques, la dialyse. Il retrouve l'antagonisme entre certains colorants ⁽¹⁾ et la *d*-tubocurarine (*d*-TC), mais pas avec les alcaloïdes

(1) Une vingtaine de colorants sont étudiés :

Rouge Congo, Chlorazol fast pink, Bleu Evans, bis J acide urée... sont actifs alors que le méthyl orange, l'acide sulfanilique et différents naphtylaminosulfonates sont sans action.

des *Erythrina*. Cet antagonisme ne semble pas lié à une activité anticholinestérasique, mais plutôt à la précipitation du curarisant par le colorant, empêchant l'alcaloïde de traverser une membrane de dialyse. L'auteur, toutefois, reconnaît la possibilité d'une combinaison entre le colorant et un constituant protéique de la jonction neuromusculaire.

W. FERRARI et E. COSTA [111-112] montrent sur la Souris entière l'antagonisme entre la *d*-TC et divers colorants ou produits voisins : le rouge Congo, le rouge trypan, la suramine sodique (1) ; le bleu trypan est inactif.

Enfin, F. BRÜCKE et coll. [41], utilisant plusieurs préparations neuromusculaires (de Grenouille, Rat, Chat), étendent cet antagonisme aux curarisants du type acétylcholinomimétique. Plusieurs colorants ou produits voisins (2) sont étudiés comparativement sur la *d*-TC, le décéméthonium et l'hexaméthylène-bis-carbamocylcholine (3) : l'antagonisme est net, total ou quelquefois moins marqué pour ces trois substances. Des expériences de précipitation *in vitro* conduisent les auteurs à admettre que la formation d'un précipité n'est pas indispensable à l'existence de propriétés antagonistes.

RESULTATS EXPERIMENTAUX (4)

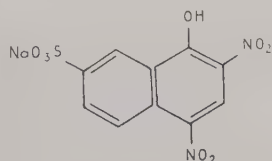
Nous avons limité notre étude à deux séries de substances colorantes, l'une comprenant certains dérivés naphthaléniques sulfonés, l'autre des dérivés du triphényl méthane. Certaines molécules incolores ont été intégrées dans cette étude à cause de leur analogie de constitution.

Nous donnerons pour chacun nos résultats expérimentaux, nous essaierons ensuite de tirer quelques conclusions.

A. — COMPOSES NAPHTALENIQUES SULFONES :

JAUNE DE MARTIUS SULFONÉ

ou dinitro 2-4- α naphtol sulfonate-7 de sodium :



PM : 336

(1) Nom déposé Moranyl*.

(2) Rouge Congo, suramine sodique, bleu d'aniline, naphthionine, acide sulfanilique.

(3) 606 HC ou BC 16, des auteurs autrichiens.

(4) Déjà partiellement publiés [63, 66, 72].

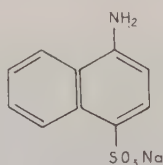
Ce composé a déjà fait l'objet de certaines études pharmacologiques :

- hyperthermisantes : il ne présente pas les propriétés hyperthermisantes du dérivé non sulfoné (R. HAZARD, J. CHEYMOL et A. QUINQUAUD [149]) ;
- inhibitrices vis-à-vis des apnées adrénaliniques ou yohimbiniques : là encore, le dérivé sulfoné ne présente pas ces propriétés que possède le dérivé non sulfoné (R. HAZARD, J. CHEYMOL et A. QUINQUAUD [150]).

Nous avons comparé les deux dérivés sur la préparation nerf sciatique-muscle tibial antérieur du Lapin : ils potentialisent tous les deux l'action de la *d*-TC, quand ils sont injectés à la dose de 50 mg/kg par voie veineuse au début du retour spontané de la curarisation. Cet approfondissement assez prolongé de la paralysie neuromusculaire est réversible par injection de néostigmine.

NAPHTIONINE

ou α naphthylamino 4-sulfonate de sodium ou 101 E :



PM : 245

Cette molécule est douée de propriétés hémostatiques (A. ESTÈVE et coll. [103]).

Sur la préparation neuromusculaire du Lapin, ce produit ne présente aucune action curarisante ou potentialisatrice des contractions maximales — obtenues par excitation du nerf sciatique — aux doses de 10 à 200 mg/kg. On observe aux très fortes doses, 600 mg/kg, une contraction.

Injectée avant la *d*-TC, la naphthionine aux doses supérieures à 100 mg/kg sensibilise la préparation à de faibles doses inactives de *d*-TC : on obtient une curarisation nette mais fugace.

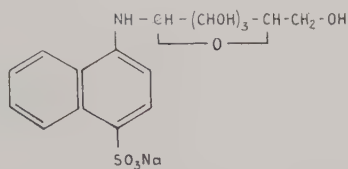
Injectée après la *d*-TC, la naphthionine sensibilise la préparation en provoquant un nouvel arrêt des contractions. La profondeur de cette potentialisation est à peu près proportionnelle à la dose. La répétition des doses n'annule pas cette action.

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par BRÜCKE et coll. [41] sur le Rat : en effet, après 4 doses répétées, les auteurs obtiennent un antagonisme qui ne semble d'ailleurs pas total.

GLUCOSIDE DE LA NAPHTHIONINE

ou glucoside du naphtyl amino-1 sulfonate-4 de sodium :

Ce corps a été préparé et étudié par A. ESTÈVE et coll. [104].



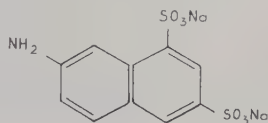
PM : 407.

Sur la préparation neuromusculaire du Lapin, le glucoside de la naphthionine n'exerce aucune modification de la contraction maximale.

L'effet potentialisateur de la *d*-TC, observé avec la naphthionine est très diminué, que le produit soit injecté avant ou après le curarisant.

N. A. D. S.

ou naphtylamino-2 disulfonate-6,8 de sodium :



PM : 347.

Le produit, aux doses utilisées dans ce groupe d'expériences (5 à 50 mg/kg), ne présente aucune action sur la contraction du tibial excité par l'intermédiaire du nerf sciatique chez le Lapin.

Par contre, il exerce une forte potentialisation de la *d*-TC, qu'il soit injecté, aux doses de 5 à 25 mg/kg, avant ou après le curarisant.

Cette potentialisation a été retrouvée dans certains cas, même quand le N.A.D.S. (5 mg/kg) est injecté plus d'une heure après la *d*-TC (voir fig. 43).

Une curarisation obtenue par l'action combinée d'une dose de N.A.D.S. et d'une dose non active de *d*-TC est très bien antagonisée par la néostigmine.

Nous avons voulu vérifier cette action sur le test de la Chute de la Tête : nous avons procédé de deux façons différentes :

1. — injection préalable du NADS (25 mg/kg i.v.) 10 minutes avant le début de la perfusion ;

2. — perfusion du mélange NADS (25 mg/ml) + *d*-TC (0,25 mg/ml).

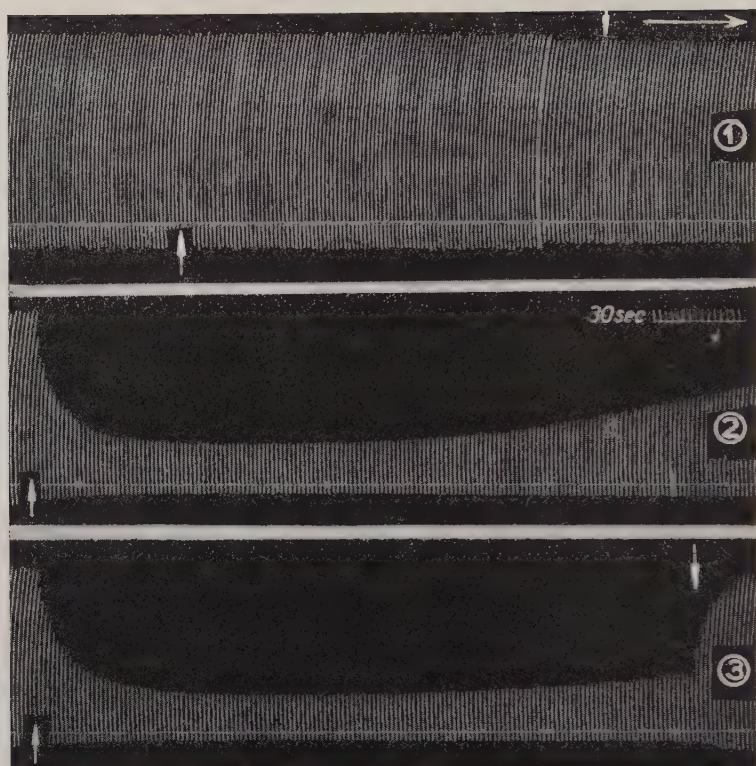


FIGURE 43.

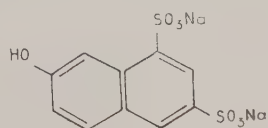
Potentialisation de la curarisation par le naphthylamino-2 disulfonate-6,8 de sodium (NADS).

Tracé 1 :	En	↑	: <i>d</i> -tubocurarine	100 µg/kg	au temps 0.
	En	↓	: N.A.D.S.	5 mg/kg	au temps + 30 min.
Tracé 2 :	En	↑	: <i>d</i> -tubocurarine	100 µg/kg	au temps + 45 min.
Tracé 3 :	En	↑	: <i>d</i> -tubocurarine	100 µg/kg	au temps + 1 h. 30.
	En	↓	: néostigmine	100 µg/kg	

Dans le 1^{er} cas (moyenne de 5 Lapins) : on obtient une diminution de 38 p. cent de la dose de *d*-TC nécessaire pour obtenir la chute de la tête.

Dans le 2^e cas (moyenne de 5 lapins) : on obtient une diminution de 33 p. cent de cette même dose.

EST. 2
ou β -naphtol disulfonate-6,8 de sodium

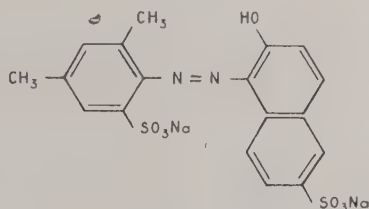


PM : 348.

Ce produit est voisin du NADS, la fonction NH^2 en 1 est remplacée par un OH en 2.

Après la curarisation par la *d*-TC, on observe comme avec le NADS une potentialisation des effets du curarisant, mais à des doses dix fois plus élevées.

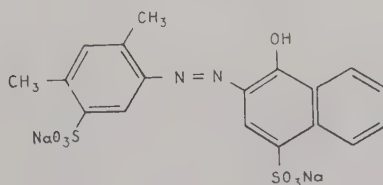
ECARLATE G. N.



PM : 480.

L'Ecarlate G. N., injecté à la dose de 50 mg/kg i.v. après action de la *d*-TC, approfondit les effets du curarisant. Cette potentialisation est assez prolongée mais l'édrophonium ramène les contractions à la normale, montrant ainsi que la préparation neuromusculaire n'a subi aucune atteinte.

PONCEAU S. X.



PM : 480.

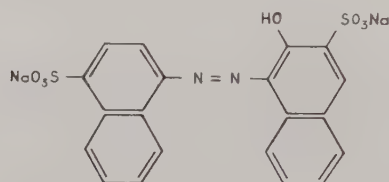
Le Ponceau S. X. par injection intraveineuse de 100 mg/kg n'exerce aucune action sur la contraction normale du tibial de Lapin.

Après curarisation partielle, le Ponceau S.X. (50 mg/kg) potentialise la paralysie. Cette action potentialisatrice paraît diminuer par augmentation des doses (100 mg/kg), que le colorant soit injecté avant ou après la curarisation.

Dans toutes les expériences, l'édrophonium a ramené les contractions à leur amplitude d'origine, preuve de l'intégrité de la préparation.

AMARANTHE A. S.

ou Bordeaux S ou Rouge de Naphtol S.

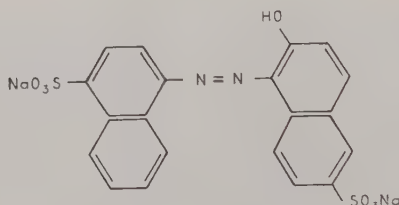


PM : 502.

L'Amaranthe AS par injection intraveineuse de 50 mg/kg fait reprendre les contractions du tibia1 antérieur de Lapin curarisé par la *d*-TC.

Cet antagonisme est de durée limitée, car l'action toxique de l'Amaranthe, aux doses actives, entraîne rapidement la mort de l'animal.

ROUGE SOLIDE E



PM : 502.

Le Rouge solide E est un isomère de l'Amaranthe AS, un des groupements sulfonés est en position 6, au lieu de la position 3 dans l'Amaranthe.

Sur la contraction du tibia1 antérieur de Lapin excité par l'intermédiaire du nerf sciatique, le Rouge solide E, même à 100 mg/kg, n'a aucune action.

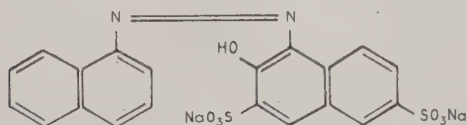
Par injection de 50 mg/kg ou mieux de 100 mg/kg, avant une dose

inactive de *d*-TC, 100 µg/kg, il se produit une curarisation profonde, spontanément réversible.

Cette potentialisation du curarisant est également très nette quand le produit est administré après la *d*-TC. Dans ce cas, l'édrophonium ramène les contractions à leur amplitude d'origine mais de façon fugace seulement.

EST. 3

ou α -naphtalène-azo- β naphthol disulfonate-3,6 de sodium



PM : 502.

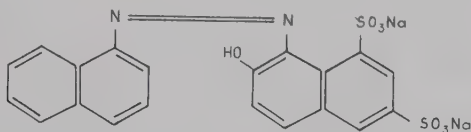
Ce composé est encore un isomère des deux molécules précédentes, mais les deux groupements sulfonates sont sur le même noyau naphtholique en position 3 et 6.

Sur la préparation neuromusculaire du Lapin, on observe une légère action antagoniste de la *d*-TC à 100 mg/kg, mais des effets toxiques entraînent rapidement la mort de l'animal.

A doses plus faibles : 25 mg/kg, 50 mg/kg, aucune action, si ce n'est ces mêmes effets toxiques.

EST. 4

ou α -naphtalène-azo- β -naphthol disulfonate-6,8 de sodium



PM : 502.

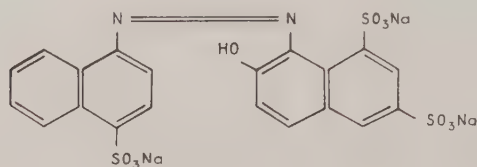
Ce composé est isomère des trois composés précédents, il porte ses deux groupements sulfonates sur le noyau naphtholique en 6 et 8.

C'est un produit toxique aux doses qui ont été essayées : de 25 mg/kg à 100 mg/kg :

A 25 mg/kg, aucune action sur la curarisation par la *d*-TC.
A 100 mg/kg, légère potentialisation.

EST 1 ou 98 E

ou Ponceau 4 R α -naphtalène sulfonate-4 de sodium azo- β -naphthol disulfonate-6, 8 de sodium :



PM : 604.

Le 98 E potentialise, sur la préparation sciatique-tibial antérieur du Lapin, les effets de la *d*-TC par injection de 50 ou 100 mg/kg au moment de la reprise spontanée des contractions. Cette action n'est accompagnée d'aucun effet toxique, car la paralysie supplémentaire obtenue est spontanément réversible jusqu'au niveau d'origine (fig. 44).

Ce composé étudié par A. ESTÈVE et coll. [103] pour ses effets sur la coagulation sanguine, sous la dénomination 98 E, n'est autre que le Ponceau 4 R ou coccine nouvelle (n° 185 du Colour Index et n° 213 du Schultz).

Nous avons essayé un échantillon provenant du Laboratoire du professeur ESTÈVE (98 E) et un échantillon de coccine nouvelle aimable-

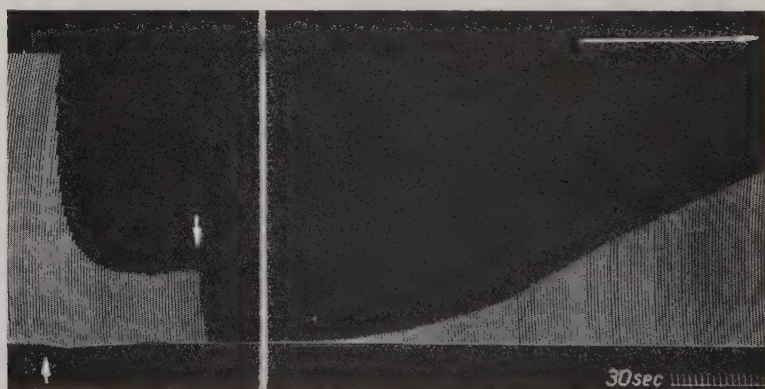


FIGURE 44.

Potentialisation de la curarisation par le sulfo-4 naphtalène azo β -naphthol disulfonate-6,8 de sodium (98 E ou EST 1).

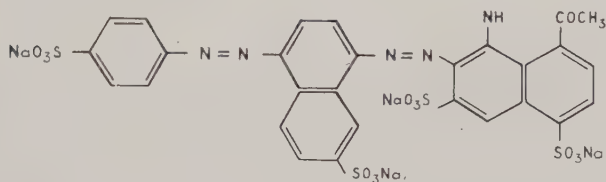
En $\uparrow$: curarisation par la *d*-tubocurarine
En $\downarrow$: EST 1

420 μ g/kg
100 mg/kg

Ext. de [66].

ment fourni par le professeur TRUHAUT. Ces deux échantillons sont de couleur légèrement différente ; ils présentent des activités pharmacologiques identiques qualitativement, mais légèrement différentes quantitativement (le 98 E paraît sensiblement plus actif que la coccine nouvelle).

NOIR BRILLANT B.N.



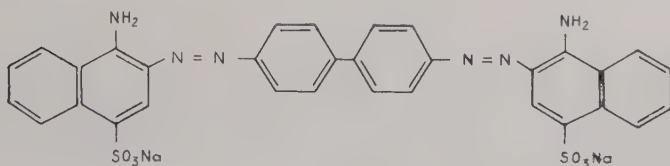
PM : 851.

Le noir brillant B N à la dose de 50 mg/kg n'a pas d'action sur la contraction normale du tibial antérieur du Lapin.

Injecté à la dose de 50 mg/kg avant ou après une curarisation, il exerce une légère action antagoniste.

Dans une seule expérience sur les cinq qui ont été faites, il a été possible de ramener les contractions à leur amplitude d'origine par administration d'édrophonium ; dans les autres cas la néostigmine et l'édrophonium sont restés inactifs. Ceci peut être dû soit à des phénomènes toxiques lésant la préparation, soit à une inhibition des composés antagonistes par le colorant.

ROUGE CONGO



PM : 696,7.

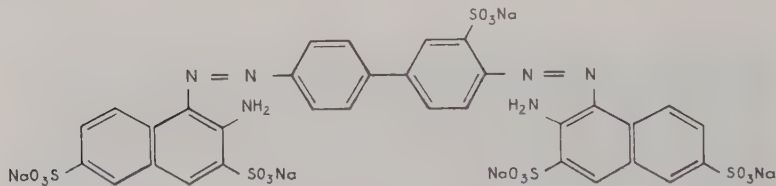
Ce composé a déjà fait l'objet de nombreuses études expérimentales ; toutes sont d'accord pour admettre ses propriétés antagonistes vis-à-vis de la *d*-TC. PETROFF [234-235], le premier, les mit en évidence, puis THIENES [274] présenta une étude plus détaillée de cette action sur la Grenouille et tenta d'étendre ces effets vis-à-vis d'autres poisons (strychnine, brucine, atropine...). KENSLEY [172], FERRARI et COSTA [112] et enfin BRÜCKE et coll. [41] précisent cette propriété.

Nous avons retrouvé ce même antagonisme sur la préparation nerf-muscle du Chat et du Lapin aux doses de 100 mg/kg i.v. (fig. 13, p. 56), ainsi que par la méthode de la chute de la tête du Lapin. La dose utilisée est de 100 mg/kg.

Nous avons expérimenté l'action antagoniste éventuelle du Rouge Congo sur un acétylcholinomimétique, le 606 HC — hexaméthylène bis-carbamoylcholine ou BC 16 — sur la préparation sciatique-tibial antérieur et soléaire du Chat : l'action antagoniste — après action du paralysant — est faible et fugace et dans quelques expériences nulle. Nous ne sommes pas en accord à ce sujet avec les travaux de BRÜCKE et coll. [41]. Toutefois, ces auteurs ont travaillé sur le quadriceps du Chat et le gastrocnémien de Rat ; sur ce dernier animal, les auteurs signalent une action antagoniste moins marquée vis-à-vis du 606 HC ou BC 16.

Pour toutes nos expériences avec le Rouge Congo, nous avons suivi les recommandations de SOMERS G. F. et WHITTET T. D. [269] pour préparer le soluté injectable de Rouge Congo : solution à 1 p. 100 de pH supérieur à 7 sans ClNa ni glucose, stérilisé à l'autoclave, d'aspect rouge clair et brillant.

ROUGE TRYPAN



PM : 1002

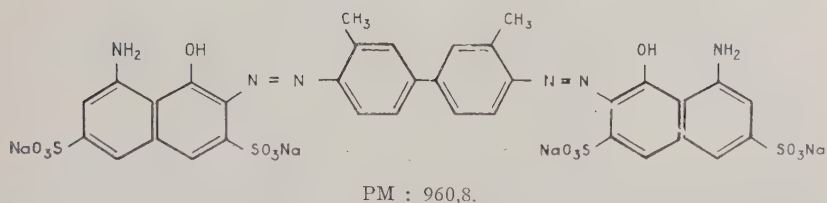
L'action antagoniste de ce produit a déjà été étudiée par FERRARI et COSTA [112] sur la Souris blanche. Ils concluent à une action nette mais plus faible que celle du Rouge Congo.

Nos résultats confirment tout à fait ceux obtenus par ces auteurs.

En effet, après curarisation de la préparation sciatique-tibial antérieur du Lapin, le Rouge trypan montre une action antagoniste variable suivant la dose :

- à 50 mg/kg : action faible et fugace,
- à 100 mg/kg : action nette mais le retour à la hauteur d'origine se fait lentement,
- à 200 mg/kg : action nette.

BLEU TRYPAN



Comme le composé précédent, le Bleu trypan a été déjà étudié par FERRARI et COSTA [112] qui ont recherché sur la Souris son action protectrice vis-à-vis de la *d*-TC. Les auteurs ne trouvent aucune action.

Sur la préparation neuromusculaire de Lapin, plus sensible qu'une simple toxicité, nous avons trouvé que le Bleu trypan ne semblait pas influencer la curarisation quand on injectait le colorant avant la *d*-TC.

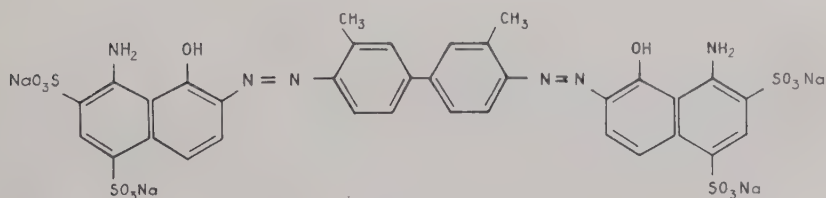
Par injection après la curarisation, les résultats sont variables suivant la dose :

- à 50 mg/kg : antagonisme faible et fugace,
- à 100 mg/kg : antagonisme marqué mais fugace,
- à 250 mg/kg : antagonisme marqué et non fugace.

Après action du Bleu trypan, la néostigmine ne fait généralement pas revenir les contractions à leur hauteur d'origine.

BLEU EVANS

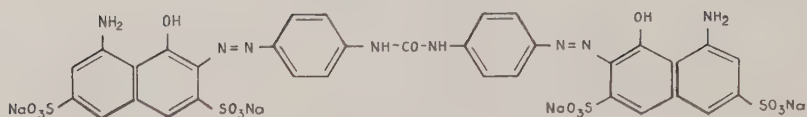
ou bleu Geigy.



C'est un isomère du composé précédent, les groupements sulfonés sont en position 2 et 4, alors qu'ils se trouvent dans le Bleu trypan en position 3 et 6.

Sur la préparation neuromusculaire du Lapin, après paralysie par la *d*-TC, on observe avec le Bleu Evans (50 mg/kg), une faible reprise des contractions. En augmentant la dose à 100 mg/kg et 200 mg/kg, on obtient respectivement un antagonisme non total et fugace et une reprise complète des contractions.

AFRIDOL VIOLET



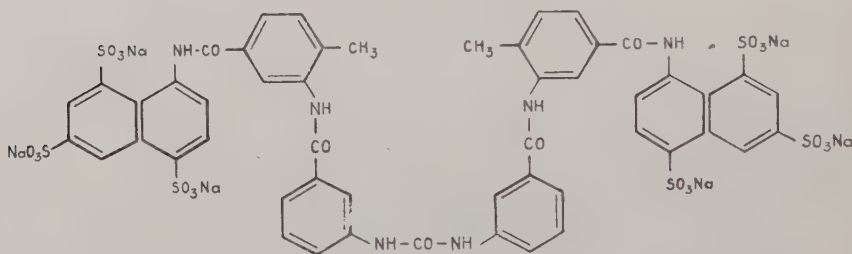
PM : 992.

Ce produit est voisin du Bleu Trypan quant à la disposition des substituants sur les noyaux naphthaléniques ; seul diffère le motif central, constitué ici par la diphénylurée.

Sur la préparation neuromusculaire du Lapin, l'afridol violet aux doses de 100 mg/kg et mieux 200 mg/kg, est capable de restaurer les contractions musculaires abolies par la *d*-TC.

On peut remarquer qu'après un retour partiel des contractions par une faible dose d'afridol violet, la néostigmine n'est plus capable de ramener ces contractions à leur amplitude d'origine.

SURAMINE SODIQUE (Moranyl *, Germanine *)



PM : 1422.

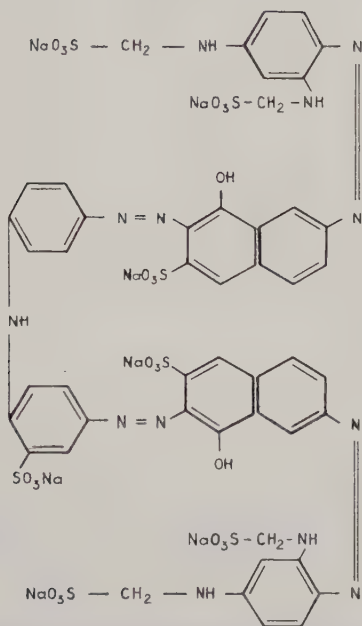
Nous avons fait rentrer la suramine sodique, malgré sa non coloration, dans le chapitre de substances colorantes ou colorées, à cause de la similitude de structure qu'elle présente avec les quelques molécules étudiées dans ce groupe.

Les propriétés anticurares de la suramine sodique sont déjà connues. Elles ont fait l'objet d'une étude par FERRARI et COSTA [III] et plus récemment par F. BRÜCKE, W. KOBINGER et O. KRAUPP [4I].

Nous avons retrouvé ces propriétés sur la préparation sciatique-tibial antérieur du Lapin : l'antagonisme est net à la dose de 100 mg/kg.

On peut remarquer que sur le Chat, la suramine sodique ne présente qu'un antagonisme faible et fugace vis-à-vis du C₁₀ et nul vis-à-vis du 606 HC. Ces derniers résultats sont un peu différents de ceux obtenus chez le Rat par BRÜCKE et coll. qui observent un antagonisme net pour le C₁₀ et faible pour le 606 HC.

NOIR 5410



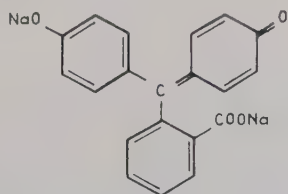
PM : 1546.

Le Noir 5410 qui est la plus grosse molécule colorante que nous ayons étudiée, s'est montré capable de faire reprendre les contractions musculaires paralysées par la *d*-TC. Une dose de 25 mg/kg ne restaure que partiellement les contractions, alors que 50 mg/kg sont capables de ramener les contractions à leur hauteur d'origine.

B. — DERIVES DU TRIPHENYLMETHANE :

Dans cette série de colorants un groupe homogène se détache, celui des phénolsulfonephtaléines dont l'étude a été faite comparativement à la phénolphtaléine (non sulfonée).

PHÉNOLPHTALÉINE SODIQUE



PM : 362.

Nous avons recherché l'action de la phénolphtaléine sur la curarisation par la *d*-TC, en utilisant les préparations sciatique-tibial antérieur du Lapin et phrénique-diaphragme isolés du Rat. Le produit a été administré après dissolution dans une solution alcaline : le pH de la solution se situait aux environs de 10. Dans les deux groupes d'expérience, nous avons recherché l'influence propre de l'alcalinité.

Sur le sciatique tibial antérieur de Lapin :

Une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium de pH 10 n'a eu aucun effet sur la contraction normale et sur la préparation curarisée par la *d*-TC.

La phénolphtaléine aux doses de 50 mg/kg et 100 mg/kg n'a aucune action sur la contraction normale.

Dans quelques-unes de nos expériences, un léger effet sensibilisant à la *d*-TC a été observé quand le colorant était injecté avant le curarisant.

Par contre, si la phénolphtaléine est administrée après curarisation par la *d*-TC, on observe dans la plupart des expériences une reprise des contractions totale ou subtotale. Dans la fig. 45, on peut constater avec

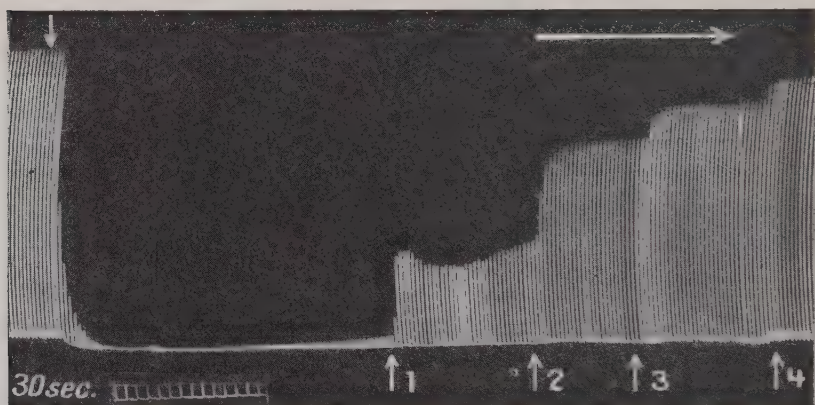


FIGURE 45.

Action anticurarimimétique de la phénolphtaléine sur la préparation nerf sciatique-tibial antérieur du Lapin.

En ↓	: curarisation par <i>d</i> -tubocurarine	420 µg/kg
En ↑	1-2-3-4 : phénolphtaléine	50 mg/kg

Ext. de [72].

des doses successives de phénolphtaléine, un retour par paliers jusqu'au niveau d'origine.

Dans un cas, nous avons observé une potentialisation faible mais nette de la curarisation — réversible à la néostigmine — mais la répétition de cette expérience sur la même préparation a conduit à une faible action antagoniste.

Préparation phrénique-diaphragme isolés de Rat :

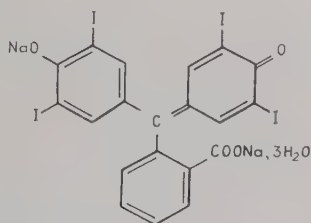
La phénolphtaléine n'a aucun effet sur la hauteur de contraction, mais par contre aux fortes concentrations (5×10^{-4} à $1. 10^{-3}$), elle élève la ligne de base du tracé, ce qui semble correspondre soit à une action sur le tonus du muscle, soit à une atteinte des mécanismes de décontraction. Ce phénomène est dû à l'action propre de l'alcalinité : en effet, par addition de soude diluée, on observe sur le tracé cette même élévation de la ligne de base et une diminution de l'amplitude des contractions.

Sur le diaphragme traité par le colorant, la *d*-TC, aux doses habituellement actives, est sans effet : il faut multiplier celles-ci par 4 pour obtenir la paralysie.

Sur le diaphragme curarisé, la phénolphtaléine à des concentrations de 1 à $3,3 \times 10^{-4}$, supprime complètement l'action curarisante de la *d*-TC.

En conclusion : pas d'action propre ; antagonisme quand le curarisant est administré avant le colorant, tant sur l'animal entier que sur une préparation neuromusculaire isolée. Quand le colorant est administré en premier : antagonisme sur la préparation isolée et légère sensibilisation sur l'animal entier.

TÉTRA-IODOPHÉNOLPHTALÉINE
ou Tétrai-Iode *



PM : 919,8.

Sur la préparation sciatique-tibial de Lapin, le tétra-iode exerce une action anticurare aux doses de 50 à 100 mg/kg (fig. 46). Celle-ci n'est pas toujours totale et aux fortes doses, une action toxique entraîne une diminution de l'amplitude des contractions, que la néostigmine ne peut ramener à la normale.

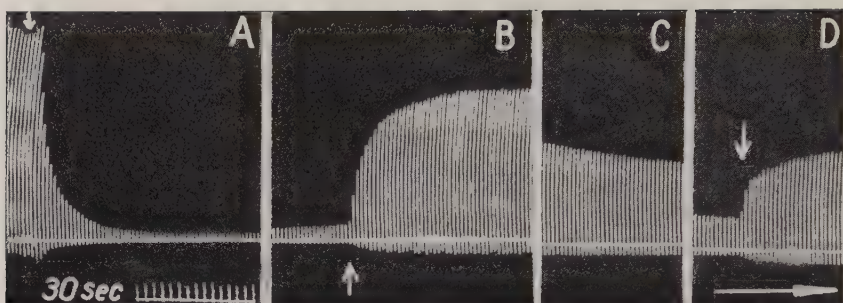


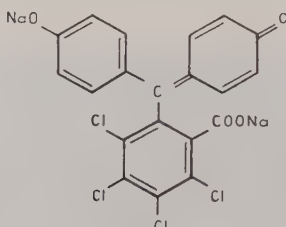
FIGURE 46.

Action anticurarimimétique de la tétra-iodophénolphtaléine sur la préparation nerf sciatique-tibial antérieur du Lapin.

En A à ↓	: curarisation par <i>d</i> -tubocurarine	400 µg/kg
En B à ↑	: tétra-iodophénolphtaléine sodique	100 mg/kg
En D à ↓	: néostigmine	100 µg/kg

Ext. de [72].

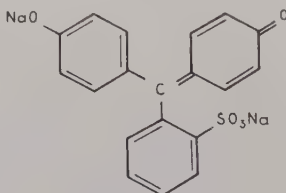
PHÉNOL TÉTRACHLOROPHTALÉINE



PM : 500.

A la dose de 25 mg/kg, convenablement supportée par l'animal, la phénoltétrachlorophthaleine n'a présenté aucune action propre ni modification de la curarisation. A plus fortes doses (50 mg/kg) les effets toxiques ne permettent de tirer aucune conclusion.

PHÉNOLSULFONEPHTALÉINE (P.S.P) ou rouge de phénol.



PM : 398.

Préparation sciatique-tibial du Lapin :

La phénolsulfonephtaléine n'exerce, sur la contraction du muscle excité par son nerf moteur, aucune action même à fortes doses.

Par contre, elle présente un effet potentialisateur de la curarisation par la *d*-TC.

Cette potentialisation s'exerce, que le colorant ait été injecté avant, simultanément ou après la *d*-TC.

Toutefois, l'administration préalable ou simultanée conduit à un effet maximum. On a pu obtenir par injection d'un mélange de PSP (50mg/kg) et de *d*-TC (50 ou 100 µg/kg) une curarisation totale nécessitant généralement 400 à 450 µg/kg de *d*-TC. Cet effet maximum n'est pas directement fonction de la dose de PSP ; certes, une dose minimum est nécessaire (25 mg/kg ou 50 mg/kg), mais ce qui semble le plus important, c'est la quantité de *d*-TC non métabolisée restant dans l'organisme. S'il reste très peu de *d*-TC, même une forte dose de PSP (100 ou 200 mg/kg) ne conduit qu'à une faible curarisation ; mais si on administre alors une faible dose inactive de *d*-TC (50 ou 100 µg/kg), on peut obtenir une curarisation profonde, quelquefois prolongée.

Par exemple, dans la figure 47, le phénomène est très net : 100 µg/kg de *d*-TC, vérifiés sans action (tracé 1), sont capables 3 minutes après la PSP, de diminuer l'amplitude des contractions de 80 p. cent (tracé 2). Cet effet est encore remarquable lorsque la PSP est injectée 15 minutes après la *d*-TC (la dose de 100 µg a exercé dans le tracé 3 une faible curarisation due à la sensibilisation propre des doses précédentes de curarisant et à la présence dans la circulation générale de molécules non éliminées de PSP). Il est bon de noter que la reprise des contractions après curarisation par potentialisation est plus rapide que dans le cas d'une curarisation simple.

Dans un autre type d'expériences, nous avons recherché, après une dose unique de *d*-TC conduisant à une curarisation de 80 à 90 p. cent, au bout de combien de temps la potentialisation par 50 mg/kg de PSP avait disparu. On peut dire en moyenne que la potentialisation conduit à une paralysie :

- au bout d'1 heure : de 100 p. cent,
- au bout de 2 heures : de 40 p. cent,
- au bout de 3 heures : de 0 p. cent.

Chute de la tête du Lapin :

Sur ce test, la potentialisation est moins puissante.

Un lot de cinq lapins est étalonné avec une solution de *d*-TC. Deux jours après, ces mêmes lapins reçoivent cinq minutes avant la perfusion,

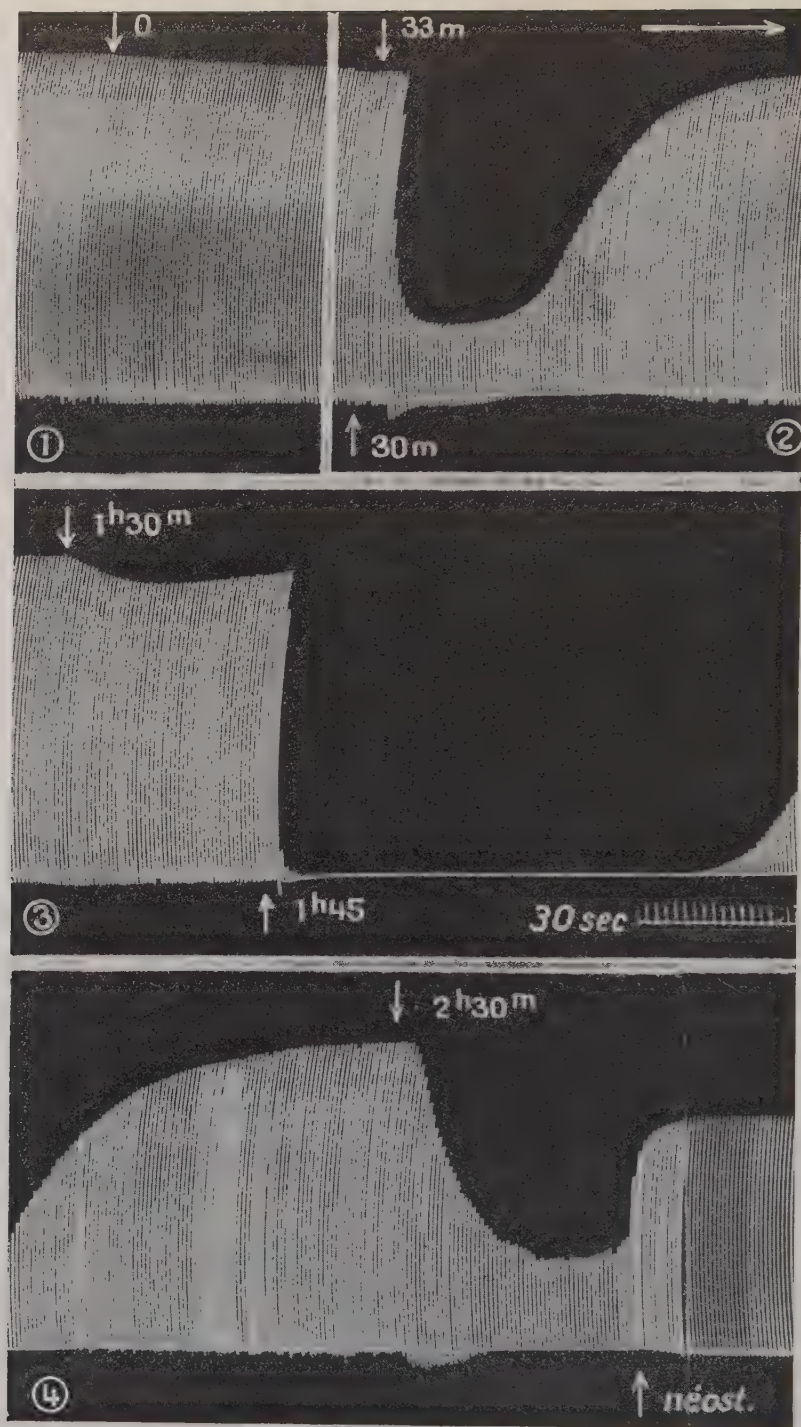


FIGURE 47.

Potentialisation de la curarisation par la phénol-sulfonephthaléine.

Tracé 1 :	à ↓ 0	: d-tubocurarine	100 µg/kg
Tracé 2 :	à ↑ 30 min.	: phénolsulfonephthaléine	50 mg/kg
	à ↓ 33 min.	: d-tubocurarine	100 µg/kg
Tracé 3 :	à ↓ 1 h. 30	: d-tubocurarine	100 µg/kg
	à ↑ 1 h. 45	: phénolsulfonephthaléine	50 mg/kg
Tracé 4 :	à ↓ 2 h. 30	: d-tubocurarine	100 µg/kg
	à ↑ 2 h. 45	: néostigmine	100 µg/kg

50 mg/kg de PSP par voie intraveineuse : la dose chute de la tête est alors déterminée de nouveau avec la même solution de *d*-TC.

Les chiffres obtenus sont les suivants :

Dose étalonnage en mg/kg	Dose après PSP en mg/kg
0,13	0,10
0,17	0,14
0,16	0,11
0,16	0,12
0,12	0,09
Moyenne : 0,15	0,11

soit une diminution de la dose de *d*-TC de 26 p. 100.

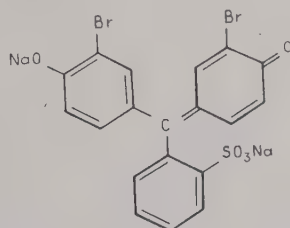
A quoi attribuer cette différence ? Nous avons déjà soulevé le problème à propos de l'acétazolamide et les mêmes hypothèses peuvent être faites (voir p. 147).

Préparation phrénique-diaphragme de Rat :

La PSP n'exerce aucune action propre sur la préparation, mais à l'opposé des expériences précédentes, la PSP exerce une action antagoniste de la *d*-TC à titre préventif ou curatif (concentration de $2 \text{ à } 5 \times 10^{-4}$). Cette différence paradoxale peut être due au fait que la préparation est une préparation isolée ou bien que le Rat ne réagit pas comme le Lapin.

ROUGE DE BROMOPHÉNOL

Dibromophénolsulfonephthaléine disodique.



PM : 556

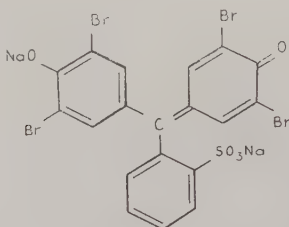
L'action du rouge de bromophénol est très peu différente de celle de la PSP : pas d'action propre sur la contraction du tibial antérieur de Lapin. Potentialisation nette par injection avant, simultanément ou après

la *d*-TC. Toutefois, il faut employer des doses légèrement supérieures pour obtenir des effets comparables. D'autre part, des effets toxiques apparaissent quand l'animal a reçu en tout environ 150 mg/kg de rouge de bromophénol.

Sur la préparation phrénique-diaphragme de Rat : les actions sont plus fugaces que celles de la PSP et nécessitent des doses plus élevées (concentration de 6×10^{-4} à 1.10^{-3}) pour être mises en évidence.

BLEU DE BROMOPHÉNOL

Tétrabromophénolsulfonephtaléine disodique.

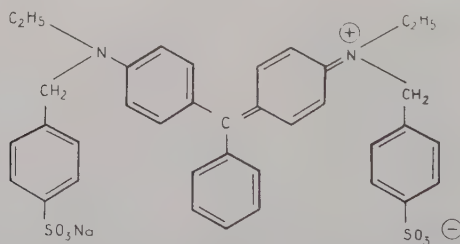


PM : 714.

Le Bleu de Bromophénol est pratiquement inactif sur la préparation sciatique-tibial antérieur de Lapin : pas d'effet propre — pas d'effet sensibilisant — pas d'effet antagoniste.

Sur la préparation phrénique-diaphragme de Rat : l'effet antagoniste est net, que le colorant ait été administré avant ou après (concentration en bleu de bromophénol de 3 à 6×10^{-4}).

VERT GUINÉE B



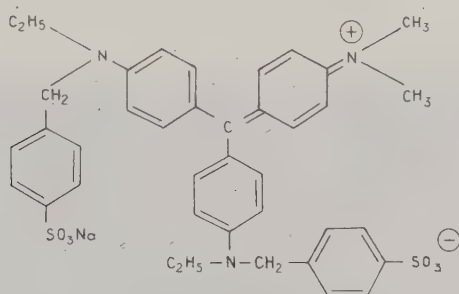
PM : 792.

Nous remarquons dans la molécule de ce colorant la présence d'une fonction NH^4 quaternaire et deux fonctions sulfonées ; une de ces dernières salifient le cation NH^4 quaternaire.

Le Vert Guinée B potentialise les effets de la *d*-TC sur la prépara-

tion nerf-muscle du Lapin. Cette potentialisation est peu profonde, mais semble prolongée ; elle s'exerce, que le colorant soit injecté avant ou après le curarisant.

VIOLET ACIDE 6B



PM : 733.

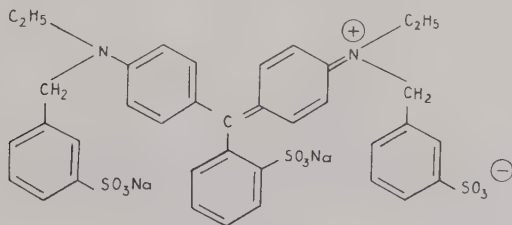
Là encore la molécule contient deux fonctions sulfonées dont une salifie la fonction ammonium quaternaire.

Sur la contraction normale du tibial antérieur de Lapin excité par le nerf sciatique, le Violet acide 6 B à la dose de 50 mg/kg conduit à une très légère potentialisation. Ce fait peut être rapporté à la présence de radicaux méthyle sur l'azote quaternaire.

Après curarisation par la *d*-TC, le Violet acide 6 B (50 mg/kg) ne conduit dans 2 cas sur 3 qu'à une très légère sensibilisation de la préparation au curarisant. Aucune influence n'a été observée par injection préalable du colorant. A plus fortes doses (200 mg/kg) le Violet acide 6 B entraîne la mort de l'animal.

BLEU BRILLANT F.C.F.

Bleu patenté A.E. ou Erioglaurine.



PM : 690.

Dans cette molécule, la fonction ammonium quaternaire est encore salifiée par un des groupements sulfonés.

Sur la contraction normale du tibial de Lapin, le Bleu brillant F.C.F., à la dose de 50 mg/kg, n'exerce aucune action.

Après curarisation par la *d*-TC, le Bleu brillant F.C.F. exerce une potentialisation nette à la dose de 50 mg/kg, plus nette encore à 100 mg/kg, conduisant à un approfondissement de la paralysie. La néostigmine ramène la contraction à sa hauteur d'origine (fig. 48).

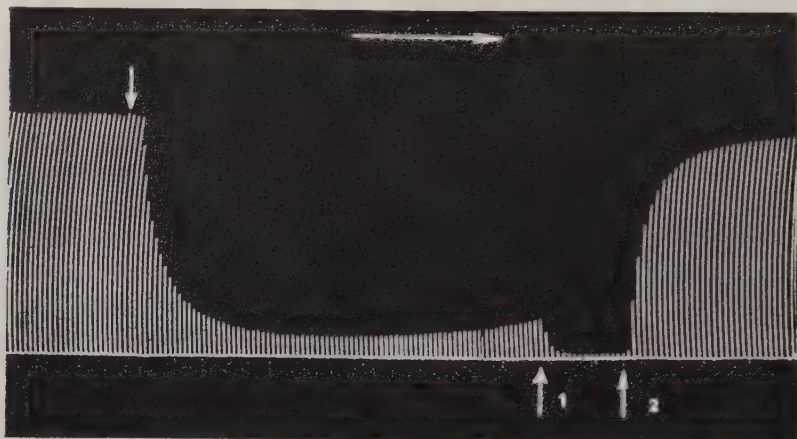


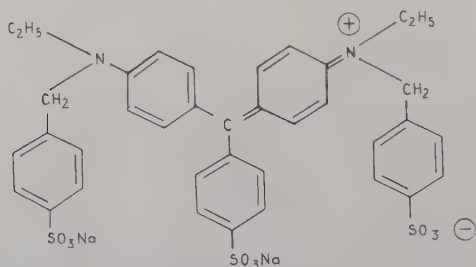
FIGURE 48.

Potentialisation de la d-tubocurarine par le Bleu brillant sur la préparation nerf sciatique - muscle tibial antérieur du Lapin.

En ↓	: <i>d</i> -tubocurarine	350 μg/kg
En ↑ ₁	: Bleu brillant F.C.F.	100 mg/kg
En ↑ ₂	: néostigmine	100 μg/kg

Ext. de [63].

VERT LUMIÈRE SF ou Vert sulfo J



PM : 792.

Sur la contraction du tibial antérieur de Lapin, excité par l'intermédiaire de son nerf, le Vert Lumière SF n'exerce pas d'action très nette, en tout cas inconstante, soit très légèrement potentialisante, soit très légèrement curarisante, suivant les animaux et suivant la dose.

Après paralysie neuromusculaire par la *d*-TC, le Vert Lumière SF (50 mg/kg) exerce une potentialisation augmentant ainsi la curarisation, cette action est montrée dans la fig. 49.

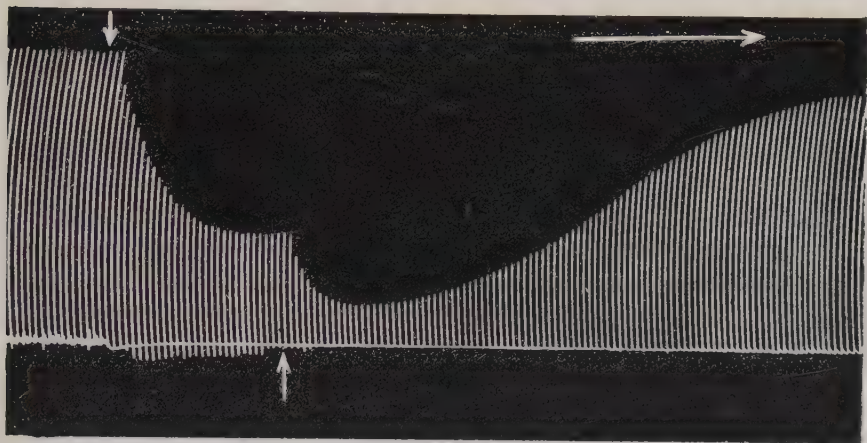


FIGURE 49.

Potentialisation de la d-tubocurarine par le Vert Lumière sur la préparation nerf sciatique-muscle tibial antérieur du Lapin.

En ↓ : *d*-tubocurarine

420 μ g/kg

En ↑ : Vert Lumière

50 mg/kg

Ext. de [63].

DISCUSSION DES RESULTATS

Tous les résultats expérimentaux, tant pharmacologiques que physico-chimiques, ont été rassemblés dans les tableaux XII, XIII et XIV, à côté de quelques caractéristiques structurales des composés étudiés.

Nous examinerons successivement l'influence du poids moléculaire, du nombre et de la position des groupements sulfonés, enfin de la présence d'autres fonctions chimiques, sur l'antagonisme ou la potentialisation qu'exercent ces substances vis-à-vis de la *d*-TC.

1° INFLUENCE DU POIDS MOLECULAIRE (P.M.) :

Différents auteurs, comme PETROFF [234-235], ont signalé l'importance de la grosseur moléculaire pour qu'une substance colorante pré-

TABLEAU XII

Rapport Constitution - Action de quelques substances colorantes naphthaléniques sulfonées

N°	Dénomination	Poids moléculaire	Groupements sulfonés		Autres fonctions	Combinaison (1) <i>in vitro</i> avec d-TC	Action	
			Nbre	Position sur le noyau naphthyle			antagoniste	potentialisatrice
1	Jaune de Martius S	336	1	en 7	—NO ₂ en 2-4 —OH en 1			++
2	Naphtionine	245	1	en 4	—NH ₂ en 1	0		++
3	Glucoside Naphtionine	407	1	en 4	—NH glucose en 1			±
4	N. A. D. S.	347	2	en 6-8	—NH ₂ en 2	0		++
5	Est. 2	348	2	en 6-8	—OH en 2	+		+
6	Ecarlate G. N.	480	2	en 6	—OH en 2	+		++
7	Ponceau S. X.	480	2	en 4	—OH en 1	+		±
8	Amaranthe A.S.	502	2	en 3 et 4'	—OH en 2	+	++ (toxique)	
9	Rouge solide E.	502	2	en 6 et 4'	—OH en 2	+		++
10	Est. 3	502	2	en 3 et 6	—OH en 2	+	± (toxique)	

(1) Mise en évidence par le déplacement de la longueur d'onde d'absorption maximum du colorant, ou par floculation à pH 7,4.
REMARQUE : Les composés 2-3-4 sont incolores ; les composés 6-7-8-9 nous ont été aimablement fournis par le Pr. TRUHAUT ; les composés 2-3-5-10 nous ont été aimablement fournis par le Pr. A. ESTÈVE de Barcelone.

sente des propriétés antagonistes. Peut-on, d'après nos résultats, confirmer de telles conclusions ?

a) DÉRIVÉS NAPHTALÉNIQUES :

L'examen des tableaux XII et XIII montre qu'à partir d'un certain P.M. (à peu près 700), toutes les molécules présentent des propriétés antagonistes. Au contraire, les dérivés de P.M. inférieur à 700 potentialisent pour la plupart les effets de la *d*-TC. Deux exceptions sont à remarquer : l'Amaranthe AS et l'Est 3 de P.M. 502 sont antagonistes ; toutefois, les doses actives se sont montrées très voisines pour l'un et l'autre produit, des doses toxiques.

Une coïncidence curieuse doit être remarquée : le rouge Congo — dérivé le plus antagoniste de la série — a un P.M. de 696, très proche de celui de la *d*-TC. (697).

b) DÉRIVÉS DU TRIPHÉNYLMÉTHANE :

Il n'est pas possible de faire une telle corrélation entre l'activité et le P.M. avec les dérivés du triphénylméthane : en effet, seuls sont antagonistes le dérivé le plus léger (phénolphtaléine) et le dérivé le plus lourd (tétra-iodo-phthaléine), les autres composés de P.M. 398 à 792 potentialisent pour la plupart l'action de la *d*-TC.

2° INFLUENCE DU NOMBRE DE GROUPEMENTS SULFONES :

L'ion sulfonique est fortement dissocié en solution aqueuse et son caractère électronégatif est accentué. Les molécules à fonction ammonium quaternaire sont elles aussi fortement dissociées en solution aqueuse, mais avec un caractère électropositif. La possibilité d'une combinaison entre ces deux ions opposés constitue une interprétation acceptable des phénomènes de potentialisation et d'antagonisme qui sera évoquée plus loin.

Comment l'accumulation de groupements électronégatifs —SO₃H dans ces molécules va-t-elle influencer leur activité pharmacologique ?

a) DÉRIVÉS NAPHTALÉNIQUES :

Il apparaît que dans la série étudiée l'augmentation du nombre des groupements sulfonés favorise l'apparition de propriétés antagonistes, alors que les molécules faiblement sulfonées potentialisent l'action curarisante. Des exceptions sont évidemment observées : si la plupart des composés présentant une action potentialisatrice ne contiennent que 1 ou

TABLEAU XIII
Rapport Constitution - Action de quelques substances colorantes naphthaléniques sulfonées

N°	Dénomination	Poids moléculaire	Groupements sulfonés		Autres fonctions sur le noyau naphtyle	Combinaison (1) <i>in vitro</i> avec d-TC	Action	
			Nbre	Position			antagoniste	potentialisatrice
11	Est. 4	502	2	en 6-8	— OH en 2	0		±
12	Est. 1 (98 E) ..	604	3	en 6-8 et en 4'	— OH en 2	0		(toxique)
12 ^{bis}	Ponceau 4 R ...							+
13	Noir brillant ...	851	4	en 3-5 et en 6'	—NHCOCH ₃ en 8.	+	+	
14	Rouge Congo ..	696	2	en 4	—NH ₂ en 1 et 1'	+	+	
15	Rouge Trypan .	1002	5	en 3-6	—NH ₂ en 2 et 2'	+	+	
16	Bleu Trypan ...	960	4	en 3-6	—OH en 8-8' —NH ₂ en 1-1'	+	±	
17	Bleu Evans	960	4	en 2-4	—NH ₂ en 1-1' —OH en 8-8'	+	+	
18	Afridol Violet ..	992	4	en 3-6	uréyl-NH ₂ en 1-1'	+	+	
19	Suramine sodique	1422	6	en 3-6-8	—OH en 8-8' uréyl-tétra-carbonamide	+	+	
20	Noir 5410	1546	7	en 3	—OH en 1-1' tétra amino méthane sulfonate	+	+	

(1) Mise en évidence par le déplacement de la longueur d'onde d'absorption maximum du colorant, ou par floculation à pH 7,4.
REMARQUE : 19 est incolore ; les composés 12 bis, 13, 20 nous ont été aimablement fournis par le Pr. TRUHAUT. Les composés 11 et 12 ont été aimablement fournis par le Pr A. ESTIÈVE de Barcelone. Le composé 18 par Madame TRÉFOUEL de l'Institut Pasteur.

2 groupements sulfonés, le composé 12 (Est 1 ou Ponceau 4 R) en contient 3. Les composés à action antagoniste contiennent généralement 4, 5, 6 et même 7 groupements sulfonés, mais, l'Amaranthe AS, le Est 3 et le Rouge Congo n'en contiennent que 2, et ce dernier composé figure parmi les plus actifs anticurares de la série.

S'il est difficile d'admettre une corrélation absolue entre le nombre de fonctions $-\text{SO}_3\text{H}$ et l'activité pharmacologique, une tendance marquée à des propriétés antagonistes peut être observée sur des molécules à noyau naphthalénique comprenant au moins 4 groupements sulfonés. Les molécules n'en comprenant que 1 ou 2 exercent généralement une potentialisation.

b) DÉRIVÉS DU TRIPHÉNYLMÉTHANE :

Comme précédemment, les dérivés mono, di ou tri-sulfonés potentialisent l'action de la *d*-TC. Au contraire, parmi les trois molécules non sulfonées de la série, deux sont douées de propriétés antagonistes, la troisième est inactive et toxique.

3° INFLUENCE DE LA POSITION DES GROUPEMENTS SulfONES SUR LE NOYAU NAPHTALENIQUE :

La plupart des positions sur le noyau naphthalénique se retrouvent dans les molécules à action potentialisatrice et antagoniste : position 4 - 6 - 8 du groupement sulfoné (la position 1 étant généralement occupée par une fonction azoïque, hydroxyle ou aminée). Seules les positions 2 et 3 ne se rencontrent que dans des molécules à action antagoniste : la comparaison de l'activité des composés 8, 9 et 10 est à ce point de vue significative. Toutefois, une conclusion formelle à ce sujet nécessiterait l'examen d'une beaucoup plus grande série de composés.

4° INFLUENCE DES AUTRES FONCTIONS :

a) DÉRIVÉS NAPHTALÉNIQUES :

Deux fonctions se retrouvent dans la plupart des composés, la fonction $-\text{OH}$ et la fonction $-\text{NH}_2$. Elles favorisent, comme le groupement $-\text{SO}_3\text{H}$, la fixation de la molécule colorante sur la fibre textile ou sur les protéines.

Il semble difficile de tirer des conclusions sur la présence et la position de ces fonctions. Toutefois, si on compare les composés 4 et 5 qui ne diffèrent que par un $-\text{NH}_2$ remplacé par un $-\text{OH}$, le groupement $-\text{NH}_2$ rend la molécule plus active dans le sens de la potentialisation. D'un point de vue plus général, les molécules les plus actives dans le sens de la potentialisation, aussi bien que de l'antagonisme, possèdent une

TABLEAU XIV

Rapport Constitution - Action de quelques substances colorantes dérivées du triphénylméthane

N°	Dénomination	Poids moléculaire	Nombre de groupes —SO ₃ —	Autres fonctions	Combinaison (1) <i>in vitro</i> avec d-TC	Action	
						antagoniste	Potentialisatrice
21	Phénol-phthaléine	362	0	—		++	
22	Tétra-iode	920	0	4 I		++ (toxique)	
23	Phénoltétrachloro-phthaléine	500	0	4 Cl		0 (toxique)	0
24	Rouge de phénol (P.S.P.).	398	1	—	0	++ (toxique)	++
25	Rouge de bromo-phénol ..	556	1	2 Br	0	++	++
26	Bleu de bromo-phénol ...	714	1	4 Br	0	0	0
27	Vert Guinée B	690	2	NH ₄ quat.	+		+
28	Violet acide 6 B	733	2	NH ₄ quat.	0		± (toxique)
29	Bleu brillant FCF	792	3	NH ₄ quat.	0		++
30	Vert lumière	792	3	NH ₄ quat.	+		++

(1) Mise en évidence par le déplacement de la longueur d'onde d'absorption maximum du colorant, ou par floculation à pH 7,4.
REMARQUE : 27-28-29-30 nous ont été aimablement fournis par le Pr TRUHAUT.

fonction NH_2 libre ou substituée (2 - 4 - 14 - 15 - 18 - 19 - 20), alors que celles présentant une action plus faible possèdent une fonction $-\text{OH}$.

Il n'est pas possible dans le groupe des molécules étudiées, de tirer des conclusions de la position de ces fonctions sur le noyau naphthalénique.

b) DÉRIVÉS DU TRIPHÉNYLMÉTHANE :

L'halogénéation de la phénolphtaléine conduit à des produits beaucoup plus toxiques. Dans le cas où l'halogénéation est faite sur le noyau phénol (composé 22), le sens de l'activité n'est pas affecté ; au contraire, si les halogènes sont fixés sur le noyau phtalique (composé 23), l'effet antagoniste observé avec la phénolphtaléine disparaît.

L'halogénéation de la phénolsulfonephtaléine sur les noyaux phénols diminue (composé 25 dibromé), puis fait totalement disparaître (composé 26 tétrabromé) la potentialisation observée avec la molécule non halogénée. Ces conclusions ne peuvent être formelles en raison de la différence fondamentale constatée entre les expériences sur l'animal entier (potentialisation) et celles sur organes isolés (diaphragme du Rat : antagonisme).

La présence de fonctions ammoniums quaternaires sur des dérivés du triphénylméthane n'entraîne aucune action curarisante. Au contraire, un dérivé (composé 28) dont les radicaux substituant un des azotes quaternaires sont méthyliques, augmente légèrement l'amplitude des contractions maximales. Ce dernier composé se différencie des trois autres composés voisins par sa relative toxicité et sa faible activité sur la curarisation.

ESSAI D'INTERPRETATION

De l'analyse que nous venons de faire sur les rapports entre la constitution et l'activité des quelques matières colorantes étudiées, il ne nous est pas possible de définir leur mode d'action. Nous devons pour cela faire appel à certaines propriétés physicochimiques communes à ces molécules, la fixation sur les protéines et la combinaison entre molécules de curarisant et de colorant.

1° FIXATION SUR LES PROTÉINES :

C. H. THIENES [274] rapporte les travaux de plusieurs auteurs sur le rouge Congo. Celui-ci est capable de protéger les animaux vis-à-vis de différentes toxines de nature protéique (botulique, tétanique, diphtérique, de la ricine), de l'autolysat de pancréas et même du venin de serpent. L'auteur admet une combinaison, une association ou une adsorption entre la toxine et le colorant.

P. Rous et coll. [257], dans des expériences sur la perméabilité capillaire, montrent que plusieurs colorants peuvent rester fixés pendant plusieurs semaines sur les vaisseaux.

C. J. KENSLEY, dans un important travail sur les propriétés anticurares du rouge Congo et de plusieurs colorants [172], cite plusieurs arguments en faveur d'une combinaison entre les colorants et des composants tissulaires de l'organisme :

- Le rouge Congo a un effet direct sur le cœur et la musculature lisse ;
- Le rouge Congo augmente l'activité spontanée de l'intestin *in vitro* ;
- Plusieurs colorants azoïques sont anticoagulants (voir HUGGETT et ROWE [156] et J. CHEYMOL [58]).

Il faudrait — dit KENSLEY — pour expliquer l'action anticurare que le colorant se combine à des constituants tissulaires et agisse ainsi directement sur un composant de la transmission neuromusculaire.

La fixation des colorants sur les protéines est une propriété classiquement admise depuis les travaux de EHRLICH, au début de ses recherches de chimiothérapie. T. B. ROBERTSON [253], pour expliquer cette fixation, rejette la théorie de la liposolubilité et admet une combinaison chimique, car les propriétés de la protéine et du colorant subissent des modifications manifestes quand les substances sont mises en contact (diminution de solubilité de la protéine, variation de couleur et solubilisation du colorant dans un solvant organique...). D'après CHAPMAN et coll. [54], cette combinaison pourrait être stéchiométrique et résulterait de la salification par les groupements électro-négatifs d'un colorant, des fonctions basiques libres de la protéine, contenant par exemple arginine, lysine ou histidine. GILLISSEN et de LUNA [124], lors d'une étude sur la toxicité de quelques colorants métachromatiques vis-à-vis du bacille tuberculeux, rappelle qu'une matière colorante mise en contact avec des cellules vivantes entrent en combinaison avec des substances tissulaires dites « *chromotropes* » ; ces substances sont de nature colloïdale et contiennent des groupements électro-négatifs libres. Ceux-ci entreraient en combinaison avec les fonctions NH_2 libres ou mono-substituées du colorant.

Nous pouvons donc admettre qu'un colorant, qu'il soit acide ou basique, est susceptible de se fixer sur les protéines par combinaison chimique.

2° COMBINAISON AVEC LE CURARISANT :

L'étude de ce problème a fait l'objet de notre seconde thèse ; nous n'y reviendrons que pour en extraire les conclusions auxquelles nous avons été amené.

Sur les 25 colorants étudiés, neuf n'ont pas montré par la méthode utilisée, la moindre trace de combinaison avec le chlorure de *d*-tubocurarine à pH 7,4. Les seize autres forment avec le curarisant une combinaison plus ou moins stable.

Les 10 colorants présentant des propriétés antagonistes sont tous susceptibles de former une combinaison.

Parmi les 14 composés potentialisant la curarisation, 6 forment une combinaison, 8 n'en forment pas.

On peut donc dire que la formation d'une combinaison entre le colorant et le curarisant est une condition nécessaire mais non suffisante pour que le colorant soit antagoniste du curarisant.

3° ESSAI D'INTERPRÉTATION :

Il apparaît que ni la fixation sur des protéines, ni la possibilité d'une combinaison entre le colorant et le curarisant ne soient une propriété des seuls antagonistes ou des seuls potentialisateurs. Il est donc difficile d'en tirer des conclusions directes sur le mécanisme d'action des uns et des autres.

Toutefois, H. VELDSTRA, dans le commentaire final d'une revue sur la synergie et la potentialisation [287], en analyse, d'un point de vue général, les mécanismes possibles.

En premier lieu, la substance synergique peut être un inhibiteur d'une des réactions métaboliques de la substance active qui est ainsi protégée.

Une deuxième possibilité moins étudiée, quoique à l'origine d'un grand nombre d'actions synergiques, s'explique par une compétition entre la substance active et la substance synergique en différents « points d'inactivation » ⁽¹⁾ de celle-là. Ces points d'inactivation peuvent être assimilés à des lieux d'adsorption non spécifiques. Ce groupe de substances synergiques constitue une forme spéciale des antimétabolites. En effet, dans un cas comme dans l'autre, l'action est basée sur une compétition avec les molécules actives conduisant à des effets différents, suivant le lieu de compétition. Alors que les antimétabolites entrent en compétition aux points d'action spécifiques et produisent ainsi un effet antagoniste, la compétition avec les substances synergiques se situe au niveau des points d'inactivation, diminuant ainsi la destruction ou l'élimination de la substance active et produisant un effet synergique. H. VELDSTRA insiste sur le fait que l'analogie structurale ne constitue pas dans ce cas une *conditio sine qua non*. Cette dernière théorie peut-elle s'appliquer aux phénomènes que nous avons expérimentalement constatés avec la *d*-TC et les colorants ?

On sait que pour agir, la *d*-TC se fixe sur des « récepteurs spéci-

(1) Traduction de « *sites of loss* ».

fiques » situés à la surface de la plaque motrice ; nous avons déjà parlé des travaux effectués pour en élucider la nature exacte ⁽¹⁾. Nous avons également vu ⁽²⁾ que la *d*-TC était capable de se lier aux protéines plasmatiques dans des proportions variables suivant les sujets, perdant ainsi toute activité. Ces protéines plasmatiques peuvent donc constituer des récepteurs aspécifiques, « points d'inactivation », évoqués par H. VELDSTRA.

Suivant que les molécules de colorant seront capables de déplacer les molécules de curarisant des récepteurs spécifiques ou aspécifiques, l'action ira, respectivement, dans le sens d'un antagonisme ou dans le sens d'une potentialisation de la paralysie.

Deux hypothèses peuvent être émises pour expliquer le mécanisme de la potentialisation et de l'antagonisme par les colorants :

Première hypothèse mettant en jeu la fixation des molécules de colorants sur les récepteurs spécifiques et aspécifiques : (3)

Pour expliquer l'effet antagoniste, il faut supposer que les molécules de colorant présentent pour les récepteurs de la plaque motrice une affinité telle, que les molécules de curarisant puissent être déplacées. Les doses actives de colorant étant relativement élevées, la loi d'action de masse favorise un tel déplacement.

Pour expliquer l'effet potentialisateur, il faut supposer qu'un déplacement identique des molécules de curarisant, se produirait au niveau des protéines plasmatiques sous l'influence des molécules de colorant.

Seule l'affinité plus marquée pour les récepteurs spécifiques ou aspécifiques différencierait les molécules antagonistes et potentialisatrices.

Aucune preuve formelle ne plaide en faveur de cette hypothèse, si ce n'est la fixation des colorants sur les protéines : cette fixation aurait lieu, comme nous l'avons vu plus haut ⁽⁴⁾, par l'intermédiaire soit des groupements électronégatifs ($-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{COOH}...$), soit des groupements électropositifs ($-\text{NH}_2$ et à un moindre degré $-\text{OH}$) du colorant. Nous avons constaté que, quels que soient les effets vis-à-vis de la curarisation, ce sont les molécules sulfonées porteuses de fonctions aminées qui sont les plus actives.

Au contraire, bien des contradictions apparaissent et rendent difficile une telle interprétation des faits :

— si les récepteurs spécifiques de la plaque motrice sont bloqués par les molécules de colorant, il faudrait admettre qu'ils le soient pour les

(1) Voir p. 29.

(2) Voir p. 154.

(3) Cette hypothèse se rapproche de celle que nous avons émise sur le mécanisme de la potentialisation par les sulfamides : voir p. 155.

(4) Voir p. 236.

molécules de *d*-TC et non pour celles d'acétylcholine qui assurent normalement la transmission, sinon le colorant devrait inhiber la transmission neuromusculaire ; or nous avons vérifié qu'il n'en est rien ;

— si l'affinité des colorants pour les récepteurs aspécifiques est vraisemblable et possible, il n'en est pas de même pour les récepteurs spécifiques, en raison de la disparité de structure entre les molécules de colorant et les substances normalement actives au niveau de ces récepteurs ;

— de plus, si des colorants sont capables de se fixer sur les récepteurs spécifiques en produisant un antagonisme, ils se fixeront facilement sur les récepteurs non spécifiques et devraient de ce fait entraîner une potentialisation.

Par conséquent, en l'état actuel de nos connaissances, si la potentialisation peut être due à une compétition entre curarisant et colorant pour occuper des récepteurs protéiques non spécifiques, il n'est pas possible de soutenir cette hypothèse pour expliquer l'effet antagoniste.

Deuxième hypothèse mettant en jeu la combinaison curarisant-colorant :

Cette hypothèse suppose, ce qui est très vraisemblable, que la liaison curarisant-récepteur spécifique soit plus forte que la liaison curarisant-récepteur aspécifique.

Les molécules de colorant forment avec celles du curarisant une combinaison ; si la liaison colorant-curarisant est plus forte que la liaison curarisant-récepteur spécifique, compte tenu de la loi d'action de masse qui joue en faveur du colorant, le colorant est antagoniste.

Si, au contraire, la liaison colorant-curarisant est moins forte que la liaison curarisant-récepteur spécifique, mais toutefois plus forte que la liaison curarisant-récepteur aspécifique, le colorant est potentialisateur. En effet, la combinaison formée au niveau des protéines plasmatiques libère sa ou ses molécules de curarisant et tout se passe comme s'il y avait une remise en circulation, un « destockage » ⁽¹⁾ des molécules de curarisant.

Enfin, si la combinaison curarisant-colorant est très labile, le colorant est inactif.

C'est donc la labilité relative de la combinaison entre les molécules de curarisant et de colorant qui différencie l'activité antagoniste ou potentialisatrice de ces dernières.

Nous avons pu constater ⁽²⁾ que la plupart des molécules à propriété antagoniste formait avec la *d*-TC une combinaison totalement ou partiellement insoluble : Ceci n'a été observé avec aucune molécule à pro-

(1) Terme employé par BOVET [28] pour expliquer l'action potentialisatrice du SKF 525. A.

(2) Voir 2^e thèse.

priété potentialisatrice. Il semble donc, à quelques exceptions près, que les combinaisons curarisant-colorant antagoniste soient stables. Ce caractère constitue un argument favorable à cette deuxième interprétation.

Par contre, il n'a pas été possible — même par analyse spectrophotométrique — de mettre en évidence une combinaison entre la *d*-TC et la totalité des colorants à propriété potentialisatrice. Pour la moitié de ceux-ci, il semble n'y avoir le moindre indice d'une interaction physico-chimique. La sensibilité de la méthode que nous avons utilisée doit-elle être mise en cause pour permettre une généralisation de cette interaction et satisfaire ainsi totalement notre hypothèse ? Nous ne pouvons franchir ce pas avant que des investigations complémentaires nous autorisent à le faire.

Un autre argument joue contre notre hypothèse : KENSLER [172], ainsi que BRÜCKE et coll. [41] signalent que des colorants présentent des propriétés antagonistes sans posséder de groupements sulfonés ni même électronégatifs ⁽¹⁾, avec lesquels pourrait se combiner la fonction ammonium quaternaire du curarisant ; BRÜCKE et coll. admettent qu'une combinaison puisse toutefois se former, grâce aux forces de VAN DER WAALS.

Nous pouvons donc constater que cette seconde hypothèse, quoique possible, n'est pas pleinement satisfaisante et n'explique pas tous les faits expérimentaux. Il est évident que les réactions physico-chimiques que nous avons observées *in vitro* en solution aqueuse tamponnée, subissent *in vivo* l'influence d'un milieu réactionnel bien plus complexe. Il n'en est pour preuve que les différences d'activité constatées avec les phénol-sulfonephthaléines, suivant que l'on opère sur un animal entier (Lapin) ou sur un organe isolé (diaphragme de Rat) : la présence ou l'absence d'un organe ou du milieu sanguin, transforme des propriétés potentialisatrices en propriétés antagonistes.

CONCLUSIONS

Dans le groupe de colorants, composés naphtaléniques sulfonés ou dérivés du triphénylméthane, que nous avons étudié, des molécules fort voisines sont capables d'exercer des influences opposées sur les effets paralysants de la *d*-TC. Ces actions s'exercent toujours à doses relativement élevées (50 à 100 mg/kg).

L'analyse des rapports entre constitution et action ne nous a pas

(1) Les phénolphtaléines que nous avons expérimentées ne sont pas sulfonées mais possèdent une fonction électronégative —COOH.

fourni de renseignements nets, susceptibles d'expliquer une différence totale d'activité. A priori, aucune structure particulière n'est commune à tous les composés exerçant un même effet. Mais l'augmentation du poids moléculaire, ainsi que l'accumulation de groupements sulfonés, semblent favoriser une action antagoniste ; de même, les positions 2 et 3 des groupements sulfonés sur le noyau naphthalénique ne se rencontrent que dans des molécules antagonistes. La présence de fonctions aminées rend la molécule plus active. Au contraire, l'accumulation d'atomes d'halogènes, dans les dérivés du triphénylméthane, diminue l'activité et augmente la toxicité.

Une adaptation des conceptions de VELDSTRA sur le mécanisme de certaines actions antagonistes et synergiques s'est avérée particulièrement appropriée à notre problème expérimental : certaines substances, selon qu'elles sont capables de déplacer les molécules actives de leur lieu d'action primaire (récepteurs spécifiques) ou de leur lieu d'inactivation (récepteurs aspécifiques), entraînent soit un antagonisme, soit une potentialisation.

Les colorants — en fonction de leur aptitude à se fixer sur les protéines — seraient-ils capables de déplacer les molécules de curarisant de l'une ou l'autre sorte de récepteurs, en produisant les effets que nous avons constatés ? Une analyse même rapide de cette hypothèse d'action laisse bien des doutes et des contradictions.

Plus fructueuse, quoique partiellement satisfaisante, est l'interprétation tenant compte de la combinaison, plus ou moins stable, que forment curarisant et colorant. La fonction ammonium quaternaire du premier échange des liaisons, sans doute du type ionique, avec les fonctions sulfonées ou électronégatives du second. L'existence d'une telle combinaison, constatée dans la plupart des cas, pourrait expliquer que les molécules de curarisant soient déplacées, par celles de colorant, des récepteurs spécifiques ou aspécifiques. Dans ce cas, le rôle des groupements sulfonés serait prépondérant.

Toutefois, tous les faits expérimentaux ne peuvent s'intégrer dans cette explication et il n'est pas impossible d'admettre, comme nous l'avons fait avec les dérivés sulfamidés, que dans les phénomènes de potentialisation, l'aptitude des colorants à se fixer sur les protéines puisse jouer un rôle important.

CHAPITRE VIII

THIAMINE et DERIVES

INTRODUCTION.

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX SUR LES PRÉPARATIONS NEUROMUSCULAIRES :

Chlorhydrate de Thiamine.

1° Action curarisante propre :

- Sur la préparation neuromusculaire *in situ*.
- Sur la préparation phrénique-diaphragme de Rat.
- Sur le *rectus*.
- Sur le Pigeon.

2° Action antagoniste vis-à-vis de la *d*-tubocurarine :

- Sur le Lapin.
- Sur le Rat.

Cocarboxylase.

Acétylthiamine.

Thiochrome.

Groupements constitutifs de la Thiamine.

Halogéno-méthylates du groupement thiazolique.

Chlorhydrate de S-thiopropylthiamine.

Pyramine.

ACTION ANTICHOLINESTÉRASIQUE DE LA THIAMINE ET DE QUELQUES DÉRIVÉS.

DISCUSSION DES RÉSULTATS :

- 1° Action curarisante propre.
- 2° Action antagoniste vis-à-vis de la *d*-tubocurarine.
- 3° Action antiacétylcholinomimétique.

CONCLUSIONS.

Le rôle joué par la vitamine B₁ au niveau de la terminaison nerveuse semble important ; en effet, B. MINZ [214] rapporte qu'elle apparaît en même temps que l'acétylcholine, par excitation d'un nerf. Toutefois, son rôle exact reste encore inconnu (VON MURALT [218-219]).

La vitamine B₁, d'autre part, est utilisée en thérapeutique à des doses parfois élevées et plusieurs accidents mortels ont été décrits dans la littérature, à la suite d'injections intraveineuses de fortes doses. Ces faits ont remis en valeur l'intérêt d'une étude pharmacologique générale. Les actions au niveau de la transmission neuromusculaire ont, en particulier, fait l'objet de recherches de plusieurs auteurs :

DEMOLE [93] montre, le premier, l'action curarisante de fortes doses de thiamine sur le Rat et la Grenouille.

ERSPAMER [102] retrouve cette action sur la contracture acétylcholinique du *rectus abdominis* de Grenouille : cette expérience est confirmée par R. DUFAYT [95] et TORDA et WOLFF [275].

PICK et UNNA [239] reprennent et confirment les expériences de DEMOLE sur la Grenouille entière en signalant que la néostigmine favorise le retour à la normale.

SMITH et coll. [268] présentent cette action curarisante sur les préparations nerf sciatique - orteil du Chien et sciatique - gastrocnémien de Grenouille : l'action de 150 mg/kg de thiamine serait identique à 1 unité par kg de *d*-tubocurarine (*d*-TC).

T. J. HALEY [142], comparant la toxicité aiguë de deux sels de thiamine, décrit la mort par paralysie respiratoire dont l'origine serait centrale.

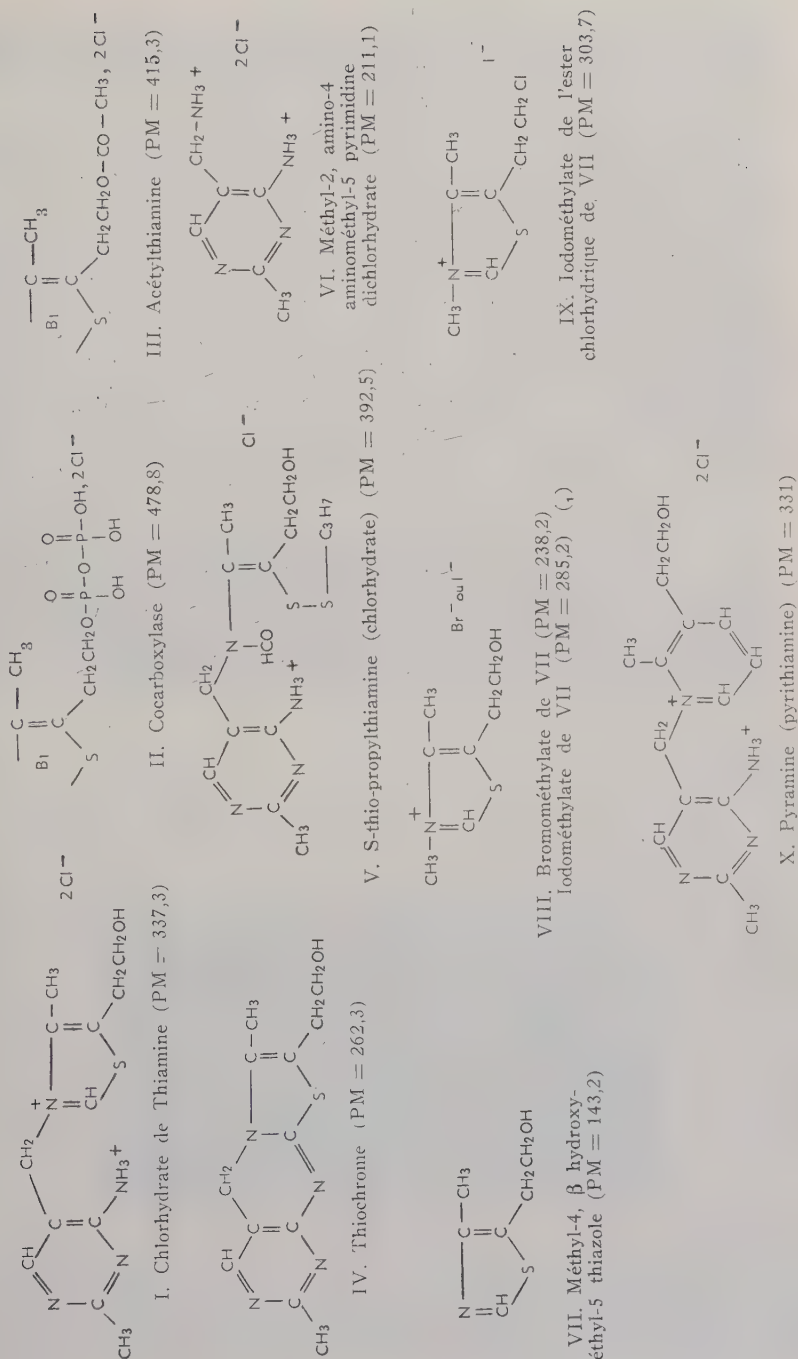
G. MOURIQUAND et coll. [217], poursuivant leur étude sur le choc vitaminique de la thiamine, constatent chez le Pigeon une immobilité absolue.

Une analyse plus fine de la curarisation par la thiamine a été faite en 1949 par MAZELLA et coll. [213], en 1955 par GJONE [126]. Les premiers auteurs utilisent le Chien et le Lapin sur lesquels ils étudient l'excitabilité, les chromaxies et les potentiels d'action musculaire ; E. GJONE emploie la préparation nerf phrénique - diaphragme de Rat et le Lapin entier. Leurs conclusions sont identiques, la thiamine agit par le même mécanisme que la *d*-TC, seules diffèrent les doses actives.

Ces propriétés sur la jonction myoneurale ne s'observent qu'à des doses bien supérieures aux doses vitaminiques. La thiamine doit donc être considérée dans ce cas, non comme une vitamine, mais comme un réactif pharmacologique.

Quoique curarisante, comme nous avons pu le constater à la suite des

Constitution de la thiamine et des dérivés voisins



(1) Nous remercions le professeur LECHAT qui nous a aimablement procuré les quantités de produits nécessaires à nos expériences.

auteurs précédemment cités, la thiamine et certains de ses dérivés présentent des propriétés antagonistes, aussi bien sur la *d*-TC que sur les acétylcholinomimétiques. Nous allons décrire successivement pour chaque composé étudié, nos résultats expérimentaux, en essayant ensuite d'expliquer les phénomènes souvent complexes que nous avons pu observer.

Le Tableau XV donne la constitution de la thiamine et de 9 molécules voisines ou dérivées étudiées.

Certaines, comme la cocarboxylase et le chlorhydrate d'acétylthiamine, conservent intacte la constitution de la Vitamine B₁. Pour d'autres, cette structure a été modifiée soit par cyclisation - thiochrome, soit par ouverture de cycle — chlorhydrate de S-thiopropylthiamine. Chaque groupement constitutif, pyrimidique et thiazolique, a été étudié séparément. Enfin, la pyramine, antivitamine B₁, résulte du remplacement du groupement thiazolique par un groupement pyridinique portant les mêmes substitutions.

I. — RESULTATS EXPERIMENTAUX SUR LES PREPARATIONS NEUROMUSCULAIRES

CHLORHYDRATE DE THIAMINE

Vitmine B₁, Aneurine... — Composé I du tableau.

1° ACTION CURARISANTE PROPRE (cf. CHEYMOL et coll. [71]) :

— SUR LA PRÉPARATION NEUROMUSCULAIRE *in situ* :

A la dose de 100 mg/kg, la thiamine curarise totalement le tibial antérieur de Lapin excité par voie indirecte. Cette curarisation est immédiate et fugace ; elle est réversible par la néostigmine.

Sur le Chat, une dose de 80 mg/kg est suffisante ; elle est généralement plus marquée sur le tibial que sur le soléaire, ce qui conduirait à classer la thiamine parmi les acétylcholinomimétiques, mais nous avons observé dans quelques cas que le soléaire était plus profondément touché que le tibial. Comme chez le Lapin, la néostigmine est susceptible d'antagoniser cette curarisation (fig. 50).

— SUR LA PRÉPARATION PHRÉNIQUE-DIAPHRAGME DE RAT :

A faible concentration ($3,3 \cdot 10^{-4}$ à $1 \cdot 10^{-3}$), la thiamine amplifie les mouvements du diaphragme, à plus forte concentration ($2 \cdot 10^{-3}$) après une potentialisation fugace de la contraction, on observe une paralysie totale (fig. 51).

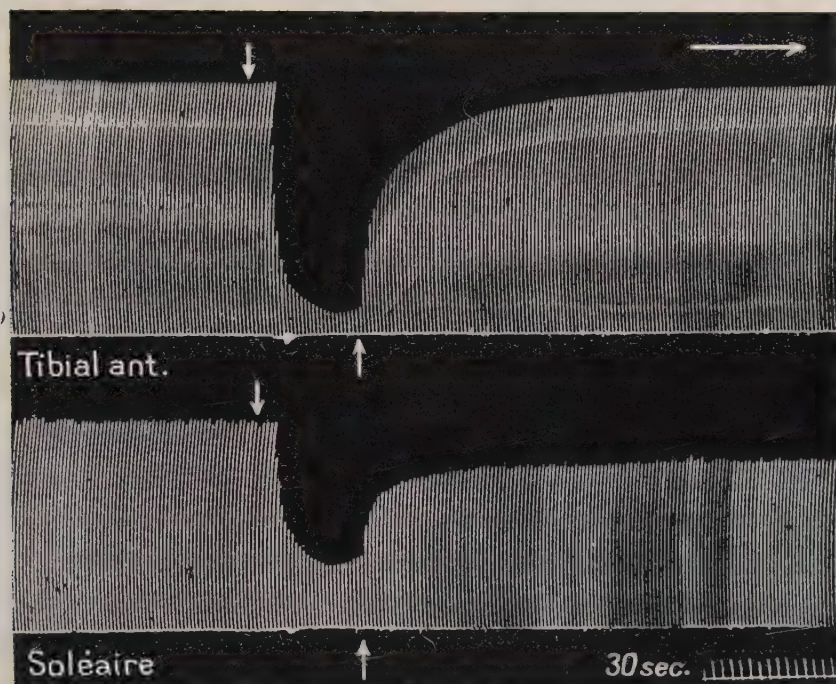


FIGURE 50.

Action du chlorhydrate de thiamine sur la préparation nerf sciatique - tibial antérieur et soléaire du Chat.

En ↓ : chlorhydrate de thiamine

100 mg/kg

En ↑ : néostigmine

100. µg/kg

Ext. de [71].

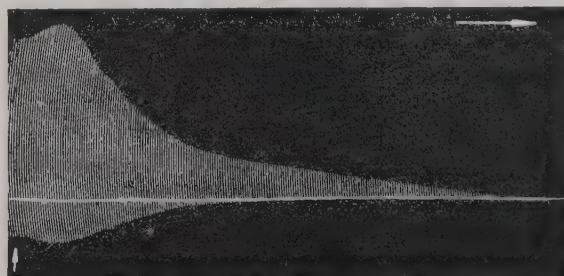


FIGURE 51.

Action du chlorhydrate de thiamine sur la préparation nerf phrénique - diaphragme du Rat.

En ↑ : Chte de thiamine 2 mg/ml de bain (Dix stimuli par minute - vitesse du cylindre 0,14 mm/sec.).

Ext. de [71].

(Cliché réduit au 1/2).

Sur une préparation excitée alternativement par voie indirecte et directe, la curarisation est totale dans le premier cas, et partielle seulement dans le second.

— SUR LE RECTUS ABDOMINIS DE GRENOUILLE :

La thiamine n'a pas d'effets contracturants, mais elle s'oppose, à la concentration de $5 \cdot 10^{-5}$, aux effets contracturants de l'acétylcholine. Ces observations confirment les résultats obtenus par ERSPAMER [102], DUFAYT [95] et TORDA et WOLFF [275].

— SUR LE PIGEON :

Par injection intraveineuse de 50 à 125 mg/kg, la thiamine produit une paralysie flasque.

En conclusion, la thiamine se classe plutôt parmi les curarimétiques, en dépit de deux résultats expérimentaux obtenus généralement avec les acétylcholinomimétiques :

- action plus marquée sur le tibial que sur le soléaire ⁽¹⁾ ;
- potentialisation de la contraction avant curarisation sur le diaphragme.

2° ACTION ANTAGONISTE VIS-A-VIS DE LA D-TC.

— *Sur le Lapin*, la thiamine, à doses comprises entre 25 mg/kg et 50 mg/kg injectées au moment du retour spontané d'une profonde curarisation, exerce une action antagoniste nette, généralement partielle, parfois subtotale ou au contraire faible. A des doses plus faibles, aucune action n'est observée, à des doses plus fortes une recurarisation se produit dans la plupart des cas.

Toutefois, fait surprenant, cette action antagoniste ne se répète que difficilement sur une même préparation neuromusculaire. Si on l'observe toujours après une première curarisation, on ne l'observe que rarement après la deuxième, et pratiquement jamais à la 3^e expérience.

— *Sur le Chat*, les phénomènes sont très voisins ; les doses actives sont généralement plus faibles (20 mg/kg) et l'action est toujours plus nette sur le soléaire que sur le tibial.

Comme sur le Lapin, cet effet antagonisme ne se répète que difficilement, à partir de la 3^e ou 4^e expérience, on observe une recurarisation au lieu de l'antagonisme (voir fig. 52).

(1) Comme nous l'avons signalé au chapitre II, la différenciation n'est pas formelle, car nous avons observé dans plusieurs cas une action plus marquée sur le tibial après injection de la *d*-tubocurarine.

Le caractère très particulier de cet antagonisme est encore prouvé par le fait qu'il n'a jamais pu être mis en évidence vis-à-vis des autres substances curarimimétiques (gallamine — 300 HC — 500 HC), tant sur le Chat que sur le Lapin, que la solution de thiamine soit tamponnée ou non, que les doses utilisées soient faibles, 1 mg/kg, ou fortes, 50 mg/kg.

D'autre part, sur le *rectus abdominis*, au lieu de s'opposer à l'action curarisante de la *d*-TC, la thiamine la favorise ; cet effet persiste même après plusieurs lavages.

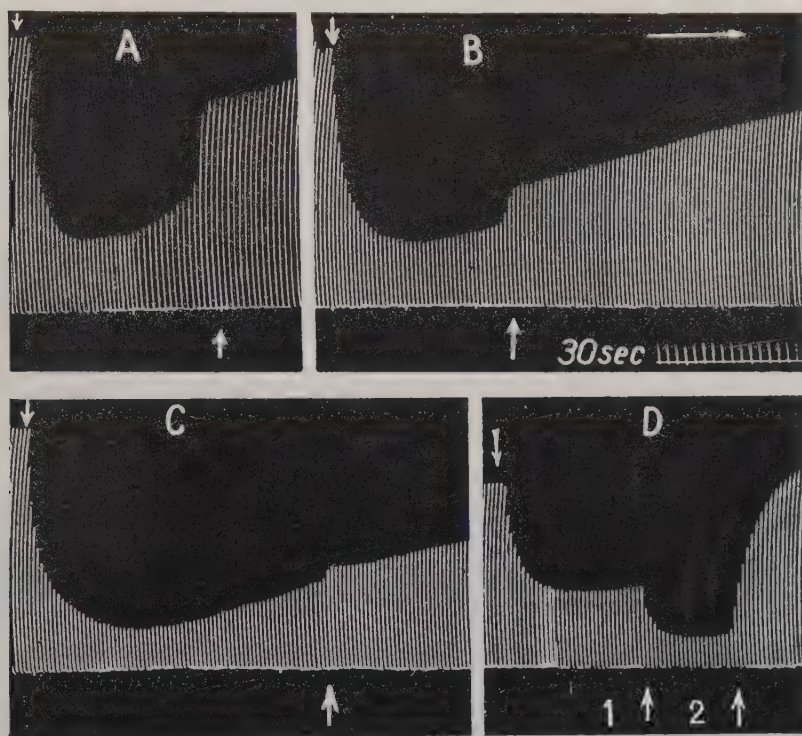


FIGURE 52.

Inversion de l'antagonisme d-tubocurarine-chlorhydrate de thiamine par répétition des actions. Préparation nerf sciatique-soléaire du Chat.

Tracé A en	↓	:	<i>d</i> -tubocurarine	400 μg/kg
en	↑	:	Chte de thiamine	20 mg/kg
Tracé B en	↓	:	<i>d</i> -tubocurarine	350 μg/kg
en	↑	:	Chte de thiamine	20 mg/kg
Tracé C en	↓	:	<i>d</i> -tubocurarine	280 μg/kg
en	↑	:	Chte de thiamine	20 mg/kg
Tracé D en	↓	:	<i>d</i> -tubocurarine	150 μg/kg
en	↑ ₁	:	Chte de thiamine	20 mg/kg
en	↑ ₂	:	néostigmine	100 μg/kg

Ext. de [71].

Une autre observation peut être faite : la néostigmine a toujours assuré le retour total des contractions après action de la thiamine : les préparations ne sont donc pas touchées et la thiamine n'a pas d'effets inhibiteurs vis-à-vis de cet anticholinestérasique de synthèse.

Au contraire, l'antagonisme de la thiamine vis-à-vis des acétylcholinomimétiques est plus général et a été exposé dans plusieurs publications du Professeur CHEYMOL et coll. [61 - 62 - 67 - 71] (voir fig. 14, p. 58).

CO-CARBOXYLASE

ou ester pyrophosphorique de la thiamine. — Composé II du tableau.

L'étude de ce corps est intéressante, car on admet qu'il représente la forme enzymatique active, le chlorhydrate de thiamine n'étant que la forme de transport ou d'élimination.

L'estérification par l'acide pyrophosphorique paraît affaiblir en général les propriétés neuromusculaires de la thiamine. Toutefois, les actions sont tout à fait parallèles.

L'action curarisante s'observe chez le Lapin comme chez le Chat aux doses de 100 ou 110 mg/kg ; la paralysie s'établit plus lentement que dans le cas de la thiamine, mais la néostigmine assure un retour généralement complet de la contraction.

L'action antagoniste de la *d*-TC, aux doses de 30 ou 50 mg/kg, n'est jamais totale (fig. 53) et comme pour la thiamine, par répétition des

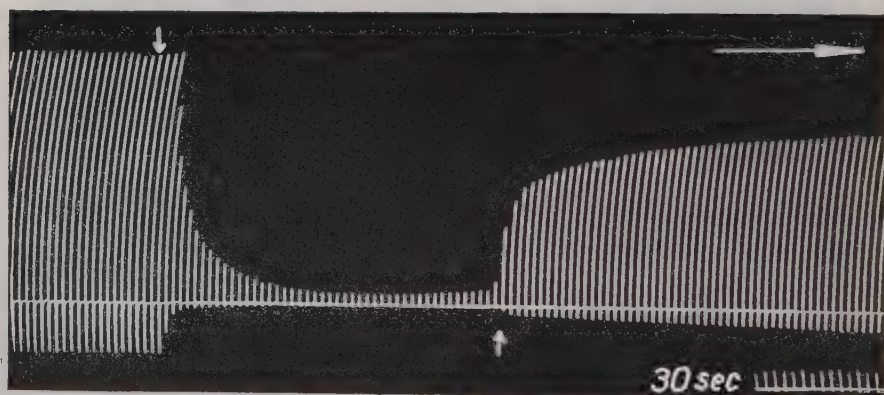


FIGURE 53.

Antagonisme d-tubocurarine co-carboxylase sur la préparation nerf sciatique-tibial antérieur du Lapin.

En ↓ : curarisation par la *d*-tubocurarine
En ↑ : co-carboxylase

420 µg/kg
50 mg/kg

Ext. de [71].

expériences sur une même préparation, on voit les effets antagonistes diminuer, puis s'inverser.

Avec les autres curarimimétiques, on observe non pas un antagonisme, mais une recurarisation.

L'action anti-acétylcholinomimétique est moins marquée que pour la thiamine.

ACÉTYLTHIAMINE

Composé III du tableau.

L'ester acétique de la thiamine a été préparée par KUHN et coll. [197] dans le but d'obtenir une molécule plus voisine de l'acétylcholine et par le fait, plus active au niveau des fibres nerveuses.

L'influence d'une telle estérification nous a paru également intéressante dans notre étude sur le système neuromusculaire.

L'action curarisante de l'acétylthiamine est encore très nette, mais elle exige des doses plus élevées que pour la thiamine (à peu près le double).

Vis-à-vis de la *d*-TC, l'antagonisme est net mais partiel seulement, à des doses (28 mg/kg) équimoléculaires de celles employées avec la thiamine. Il est généralement plus marqué sur le soléaire que sur le tibial (fig. 54), mais comme précédemment cette action diminue puis s'inverse par répétition des expériences sur une même préparation.

Il nous a été impossible de l'observer après curarisation par d'autres substances du type curarimétique.

L'acétylthiamine possède également des propriétés anti-acétylcholinomimétiques.

THIOCHROME

Composé IV du tableau.

Le thiochrome est un produit d'oxydation de la thiamine, vitaminiquement inactif. La cyclisation du motif central de la molécule a transformé l'azote quaternaire du cycle thiazolique en azote tertiaire.

Le thiochrome est peu soluble dans l'eau froide ; nous avons utilisé une solution à 5 mg par ml, obtenue par chauffage à 60°, que l'on injectait après tiédissement jusqu'à 39°.

Le thiochrome n'est pas curarisant aux doses où la thiamine l'était ; ceci est tout à fait compréhensible, par suite de la disparition de la fonction ammonium quaternaire.

Mais, par contre, il présente des propriétés anticurarimimétiques beaucoup plus nettes que la thiamine, à doses plus faibles (fig. 54). Cette propriété antagoniste s'observe également sur les autres substances

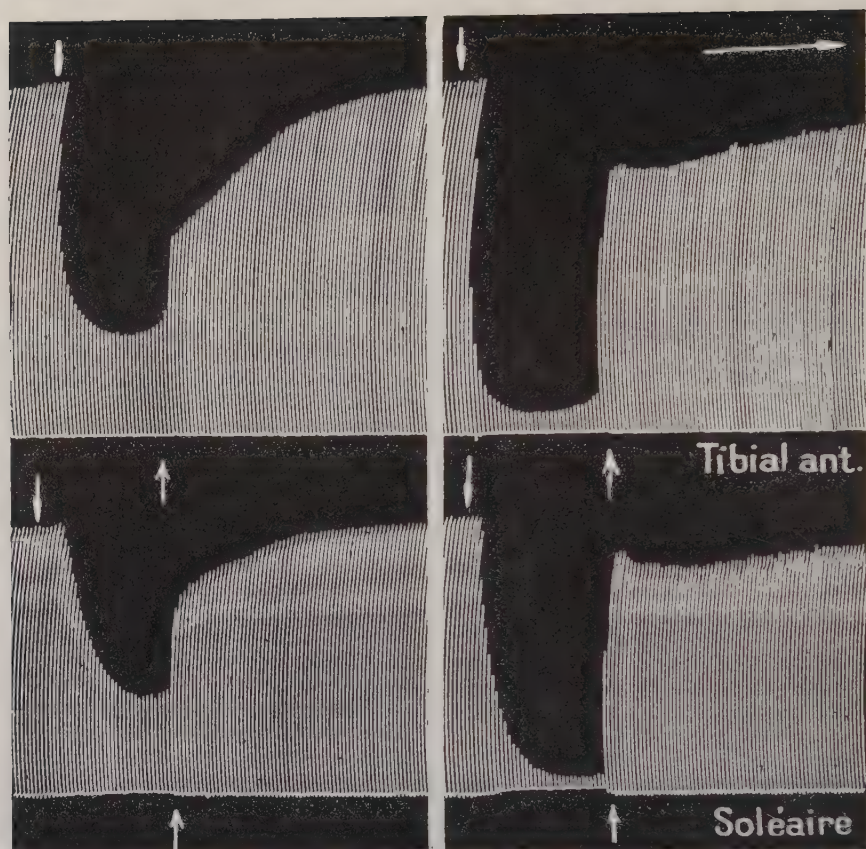


FIGURE 54.

Action anti-d-tubocurarine de l'acétyl-thiamine et du thiochrome sur la préparation nerf sciatique - tibial antérieur et soléaire du Chat.

Tracé de gauche	en ↓	: curarisation par la <i>d</i> -tubocurarine	420 µg/kg
	en ↑	: Chte d'acétylthiamine	28 mg/kg
Tracé de droite	en ↓	: curarisation par la <i>d</i> -tubocurarine	390 µg/kg
	en ↑	: thiochrome	29 mg/kg

Ext. de [71].

curarimimétiques (gallamine - 336 H.C.). On a même pu mettre en évidence une action antagoniste partielle mais très nette sur la paralysie par la thiamine elle-même.

D'autre part, contrairement à la thiamine, la cocarboxylase et l'acétyl-thiamine, le thiochrome est susceptible de répéter ses actions sur une même préparation.

L'action vis-à-vis des acétylcholinomimétiques est plus inconstante que dans le cas des molécules voisines.

GROUPEMENTS CONSTITUTIFS DE LA THIAMINE

La thiamine est formée de deux cycles réunis par un pont méthylénique : un cycle pyrimidique substitué et un cycle thiazolique substitué dans lequel l'azote est quaternaire ; on a pu préparer chacun de ces groupements et nous avons recherché si un de ceux-ci était plus particulièrement responsable des propriétés observées avec la thiamine.

Ce sont les composés VI et VII du tableau.

Aux doses équimoléculaires de la thiamine, les deux molécules n'ont aucune activité sur la préparation neuromusculaire :

- pas d'action curarisante ;
- pas d'action antagoniste : à plus fortes doses, on observe une légère recurarisation, instantanée et fugace pour le groupement pyrimidique, plus lente et progressive pour le groupement thiazolique ;
- enfin, pas d'action anti-acétylcholinomimétique. Toutefois, dans le groupement thiazolique, l'azote est tertiaire, nous l'avons quaternisé par le bromure et l'iodure de méthyle, afin de rétablir la fonction ammonium quaternaire existant dans la thiamine.

BROMO ET IODOMÉTHYLATE DU GROUPEMENT THIAZOLIQUE

Composés VIII du tableau.

Ils sont tous les deux curarisants mais à très fortes doses seulement ; avec le dérivé bromométhylé à 200 mg/kg, on obtient sur la préparation neuromusculaire du Chat, un très léger crochet de curarisation qui ne se produit que sur le tibial : ce fait laisse à penser qu'ils seraient plutôt du type acétylcholinomimétique.

Avec l'iodométhylate (400 à 600 mg/kg), on observe de façon constante une potentialisation de la contraction maximale chez le Chat et le Lapin, quelquefois suivie chez le Lapin seulement, d'une curarisation légère.

Sur la curarisation par la *d*-TC, les deux halogéno-méthylates exercent une action antagoniste nette, totale ou subtotale autant sur le Lapin que sur le Chat : dans ce dernier cas, il est généralement plus marqué sur le tibial que sur le soléaire. Après un antagonisme partiel, des doses successives sont capables de ramener la contraction à son niveau d'origine : il faut employer des doses de 15 à 20 mg/kg pour le bromure et 20 à 30 mg/kg pour l'iodure (fig. 55).

Cet effet antagoniste est susceptible de se retrouver, même quand on répète les expériences sur une même préparation.

Il est également observé, mais peut-être de façon un peu moins intense, avec d'autres substances curarimimétiques, ce qui autorise à généraliser cette action à tout le groupe des curarimimétiques.

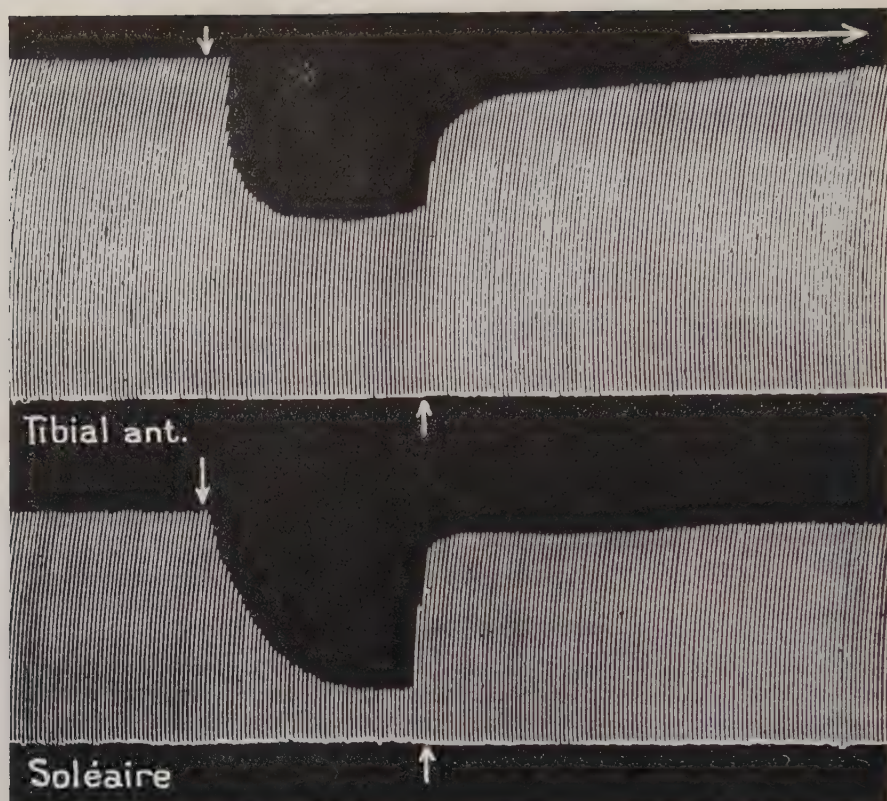


FIGURE 55.

*Action anticurarimimétique du bromo-méthylate de VII (composé VIII) sur la pré-
paration nerf sciatique-tibial antérieur et soléaire du Chat.*

En ↓ :	curarisation par la <i>d</i> -tubocurarine	420 µg/kg
En ↑ :	Composé VIII	14 mg/kg

Ext. de [71].

D'autre part, vis-à-vis des acétylcholinomimétiques, nous avons observé dans nos premières expériences, faites avec le bromure, des actions antagonistes inconstantes, uniquement sur le soléaire de Chat. Avec l'iodure, obtenu à un état de pureté beaucoup plus satisfaisant, nous n'avons pas pu les retrouver ; sont-elles le fait d'une impureté ou sont-elles fonctions de l'halogène ?

Il est possible, avec le bromométhylate, d'antagoniser nettement, quoique de façon peu marquée, la curarisation par la thiamine : ce phénomène avait déjà été observé avec le thiochrome.

Nous avons également étudié un dérivé des molécules précédentes : l'ester chlorhydrique de la fonction alcool primaire (composé IX).

Contrairement au dérivé alcoolique, l'ester chlorhydrique est beaucoup plus curarisant. Avec 1 mg/kg, on obtient un léger crochét de curarisation sur le tibial antérieur de Chat. A 5 mg/kg, la curarisation est beaucoup plus prononcée sur le tibial, alors que l'on observe sur le soléaire une potentialisation de la contraction maximale. A 20 mg/kg, la curarisation atteint 90 p. cent sur le tibial. Si on administre après cette dernière curarisation de l'édrophonium (500 µg/kg), on observe une reprise immédiate des contractions bien au-delà de l'amplitude de la contraction maximale.

Sur le Poussin, cet ester chlorhydrique a provoqué à la dose de 5 mg pour 100 g, une contracture typique des pattes durant environ 10 minutes : son action curarisante est donc du type acétylcholinomimétique.

Vis-à-vis de la *d*-TC, l'ester chlorhydrique de l'iodométhylate du groupement thiazolique de la thiamine, exerce une action antagoniste un peu moins prononcée qu'avec le dérivé à fonction alcool libre : après une curarisation profonde chez le Chat, l'ester chlorhydrique à la dose de 15 mg/kg fait reprendre presque totalement les contractions du tibial, mais partiellement seulement celles du soléaire.

Avec les acétylcholinomimétiques, on observe une recurarisation à des doses de 5 mg/kg.

CHLORHYDRATE DE S-THIOPROPYLTHIAMINE

Composé V du tableau.

Même à des doses mortelles (200 mg/kg), le chlorhydrate de S-thiopropylthiamine n'a pas d'action curarisante ; on observe au contraire, chez le Lapin, une potentialisation de la contracture maximale.

Vis-à-vis de la *d*-TC, la S-thiopropylthiamine n'exerce aucun effet antagoniste ; aux doses de 20 à 50 mg/kg, il ne se produit qu'une légère recurarisation. La préparation neuromusculaire n'est pas atteinte, car la néostigmine ramène les contractions à leur amplitude d'origine.

Vis-à-vis des acétylcholinomimétiques, l'action antagoniste est surtout nette sur le soléaire du Chat.

PYRAMINE

Composé X du tableau — ou pyrithiamine (1).

La pyramine est une molécule ressemblant à la thiamine, mais dans laquelle le cycle thiazolique a été remplacé par un cycle pyridinique. Elle possède des propriétés antivitamin B₁.

(1) La dénomination pyrithiamine ne doit pas être utilisée, car la molécule ne contenant plus de soufre, le préfixe *thia* n'a plus de raison d'être.

Cet antagonisme va-t-il s'observer également au niveau de la transmission neuromusculaire ?

— La pyramine, comme la thiamine, est curarisante et à des doses identiques. Cette curarisation, plus profonde sur le soléaire que sur le tibial, est antagonisée par la néostigmine.

— Après blocage de la transmission neuromusculaire par la *d*-TC, la pyramine (18 mg/kg) est capable de restaurer la contraction (fig. 56) ; cette action est également partielle et plus marquée sur le tibial que sur le soléaire du Chat. Chez le Lapin, comme chez le Chat, on observe par répétition des actions, une diminution puis une inversion de celles-ci.

— Vis-à-vis des acétylcholinomimétiques, l'action antagonisme se retrouve mais elle est plus nette sur le soléaire que sur le tibial.

La pyramine a donc une action du même type que la thiamine, mais un peu moins marquée pour des doses équimoléculaires.

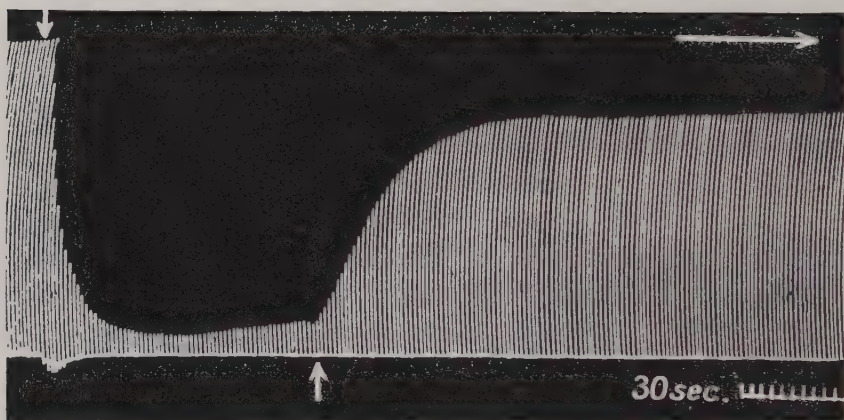


FIGURE 56.

Antagonisme d-tubocurarine-pyramine sur la préparation nerf sciatique-tibial antérieur du Chat.

En ↓ : curarisation par la *d*-tubocurarine

420 μ g/kg

En ↑ : pyramine

18 mg/kg

Ext. de [71].

II. — ACTION ANTICHOLINESTERASIQUE DE LA THIAMINE ET DE QUELQUES DERIVES

Elle a fait l'objet de nombreux travaux en rapport avec les symptômes d'avitaminose B₁ et les conclusions ne sont pas toujours concordantes. Ces divergences tiennent souvent au fait que les conditions expérimentales et les sources d'enzyme sont différentes.

En effet, SUELLMANN et BIRKHAÜSER [271], expérimentant sur le sérum humain et le sérum de Cheval, observent une inhibition par la thiamine et l'acétylthiamine. De même, GLICK et ANTOPOL [131-132], constatant que certains symptômes de déficience en B₁ étaient supprimés par administration d'acétylcholine, ajoutent de la thiamine à des sérums de Rat ou de Cheval. Ils observent une inhibition par la thiamine, ainsi que par la cocarboxylase et l'acétylthiamine, mais toutefois moins marquée pour ces derniers. Ils supposent donc que la thiamine potentialise l'acétylcholine par un mécanisme anticholinestérasique. MASSART et DUFAIT [210 - 211 - 212] arrivent à des conclusions voisines avec le sérum de Cheval : la thiamine et son ester acétique, montrent une affinité marquée pour la cholinestérase et exercent sur elle un pouvoir inhibiteur. D'autre part, ANTOPOL, GLAUBACH et GLICK [8] ont constaté que chez le Pigeon béribérique, l'activité cholinestérasique du sérum augmente parfois jusqu'à dix fois la valeur normale. Mais cette augmentation n'a pas été retrouvée chez le Rat par LISSAK, KOVACS et NAGY [205].

Ces dernières constatations *in vivo* sont retrouvées *in vitro* par d'autres auteurs : c'est ainsi que DHELLEMMES [94] trouve une action seulement à fortes doses sur la pseudo-cholinestérase du sérum humain (inhibition de 10 p. 100 à la concentration de 1.000 µg/ml).

Cette faible activité a été également constatée par E. GJONE et SKRAMSTAD [129] avec la thiamine et la cocarboxylase vis-à-vis de la pseudocholinestérase sérique et de la cholinestérase vraie des hématies de l'Homme et du Rat.

Nous avons recherché le pouvoir anticholinestérasique de la thiamine, de la cocarboxylase, de la pyramine et du thiochrome sur la pseudo-cholinestérase de sérum humain et la cholinestérase vraie du cerveau de cobaye par la méthode manométrique de WARBURG (Technique d'AMMON).

Nos résultats expérimentaux sont rassemblés dans le tableau XVI, en prenant, comme substance de comparaison l'ésérine. (Voir CHEYMOL et coll. [71]).

Pour aucun des corps étudiés, l'activité anti-estérasique ne peut être rapprochée de celle de l'ésérine, plusieurs centaines de fois plus active qu'eux.

Sur la pseudocholinestérase, l'ordre croissant d'activité est : thiochrome, pyramine, thiamine, cocarboxylase ; toutefois, par augmentation des concentrations, on observe généralement un plateau à 45 p. cent pour la thiamine, à 30 p. cent pour la pyramine, à 15 p. cent pour le thiochrome, alors que pour la cocarboxylase, le pouvoir inhibiteur semble toujours proportionnel aux doses.

TABLEAU XVI
Activité anticholinestérasique de la thiamine et quelques dérivés.

Inhibition de 25 % obtenue sur :	DOSES DE (1)									
	ESERINE		THIAMINE		THIOCHROME		COCARBOXYLASE		PYRAMINE	
	en mg	en molécule g.	en mg	en molécule g.	en mg	en molécule g.	en mg	en molécule g.	en mg	en molécule g.
Pseudocholinestérase du Sérum humain .	0,000.005	12.10— ¹²	1	3.10— ³	—	—	3,5	7.10— ³	2	6.10— ³
Cholinestérase vraie du Cerveau de cobaye	0,000.01	24.10— ¹²	20	60.10— ³	1	38.10— ⁴	—	—	3	9.10— ³

(1) Toutes doses dissoutes dans 0,1 ml de solution.

Sur la cholinestérase vraie, l'ordre d'activité croissante est inversé : cocarboxylase, thiamine, pyramine, thiochrome. Le pouvoir inhibiteur est sensiblement proportionnel à la dose de pyramine et nous avons pu obtenir l'inhibition totale pour une concentration molaire de 6.10^{-2} . Dans le cas de la thiamine, il se forme un plateau à 33 p. cent. Pour la cocarboxylase, le pouvoir inhibiteur extrêmement faible semble proportionnel à la dose. Le faible solubilité du thiochrome n'a pas permis d'aller au-delà d'une inhibition de 33 p. cent.

Cette faible activité *in vitro*, constatée également par DHELLEMES et GJONE, peut-elle s'exercer *in vivo* ?

Cela supposerait, ou bien que la thiamine puisse être transformée en une substance particulièrement active sur l'enzyme, ou bien qu'elle soit concentrée en des points bien précis, comme il l'a été constaté pour la cholinestérase dans la plaque motrice. Mais tout ceci reste à démontrer et exige des expériences complémentaires.

III. — DISCUSSION DES RESULTATS ESSAI D'INTERPRETATION (voir TABLEAU XVII)

1° ACTION CURARISANTE PROPRE :

Elle ne s'exerce, pour la plupart des produits, qu'à des doses élevées bien supérieures à celles utilisées dans la pratique pour la *d*-TC ou les curarisants de synthèse.

La présence d'une fonction ammonium quaternaire est indispensable à cette action : en effet, les quatre molécules dans lesquelles l'azote thiazolique est tertiaire, ne sont pas curarisantes. Dans les autres molécules, l'action est qualitativement et quantitativement nuancée : les plus petites molécules (bromométhylate du groupement thiazolique) n'étant actives qu'à doses élevées. Le poids moléculaire semble donc jouer un certain rôle.

Mais si la thiamine, ses esters pyrophosphorique et acétique se rapprochent dans la plupart des tests du type curarimimétique, il n'en n'est pas de même pour les deux halogénométhylates du groupement thiazolique : ces deux molécules ont des propriétés dépolarisantes qui les font rentrer dans le type acétylcholinomimétique.

On voit donc que le remplacement d'un radical pyrimidique substitué par un radical méthyle fait changer de type une substance curarisante. Des observations semblables sur l'influence des radicaux alcoyles fixés sur l'azote quaternaire, ont déjà été faites sur plusieurs molécules curarisantes de synthèse : l'existence d'un ou de plusieurs radicaux méthyle semble indispensable pour obtenir une action dépolarisante, leur remplacement par des radicaux plus lourds transforme ces molécules en curarisants du type compétitif.

TABLEAU XVII
Rapport Constitution - Action des quelques dérivés thiaminiques étudiés.

P. Moléc.	Fonction Ammonium quaternaire	Action curarisante propre	Action antagoniste vis-à-vis de :			Acétylcholinomimétique
			Antagonisme	d-tubocurarine	Observations	
Chlte Thiamine	+	++ ++ +	++ ++ +		Inversion par répétition des actions	++ ++ +
Cocarboxylase	+	++ ++ +	++ ++ +		— id. —	++ ++ +
Chlte Acétylthiamine	+	++ ++ +	++ ++ +		— id. —	++ ++ +
Thiochrome	0	0	++ ++ +		Pas d'inversion anticurari-mimétique	++ ++ +
Groupement pyrimidique III	0	0		recurarise	0	0
Groupement thiazolique III.	0	0		recurarise	0	0
Groupement thiazolique IV :						
Bromure	+	±	++ ++ +		Pas d'inversion anticurari-mimétique	? (1)
Iodure			++ ++ +			
Ester Cl. du précédent produit	+	++ ++ +	++ ++ +		— id. —	0
S-thiopropylthiamine	0	0	0.1 recurarisation légère		0	++
Pyramine	+	++ ++ +	++		Inversion par répétition	

(1) Les premiers résultats obtenus ont montré une action antiacétylcholinomimétique mais avec un produit plus purifié, nous n'avons pas pu retrouver une telle action.

2° ACTION ANTAGONISTE VIS-A-VIS DE LA *d*-TC :

Parmi les molécules étudiées, on peut distinguer trois groupes :

- les anticurarimimétiques (thiochrome, halogénométhylate du groupement thiazolique), actifs tant sur la *d*-TC que sur les autres curarisants du même type et capables de répéter leurs actions ;
- les antagonistes de la *d*-TC (thiamine et ses esters pyrophosphorique et acétique, pyramine), dont les actions ne peuvent se répéter sur une même préparation ;
- ceux qui augmentent la curarisation (groupement pyrimidique et thiazolique tertiaire, et de façon très faible, la S-thiopropylthiamine).

Dans le premier groupe, se trouvent réunis le thiochrome et les dérivés ammonium quaternaire à action dépolarisante : cette dernière propriété permet — comme nous l'avons vu dans le chapitre II — à de telles molécules de restaurer la transmission neuromusculaire qui a été bloquée par des curarisants du type compétitif. Leur fixation sur la substance réceptrice de la plaque motrice d'une part, leurs propriétés dépolarisantes sur celle-ci d'autre part, influencent l'équilibre de la loi d'action de masse, en faveur de l'acétylcholine qui peut ainsi reprendre plus facilement son rôle transmetteur. L'explication n'est toutefois pas totalement satisfaisante, car si l'ester chlorhydrique est beaucoup plus curarisant que les dérivés à fonction alcool libre, leur pouvoir anticurarimimétique est à peu près du même ordre ; il faudrait donc admettre pour ces derniers une autre explication.

Plus difficile encore est l'interprétation des résultats obtenus avec le thiochrome qui ne possède pas de propriétés dépolarisantes. Ses effets inhibiteurs de la cholinestérase peuvent-ils être mis en cause ? Deux raisons font rejeter cette explication :

— le thiochrome est 100.000 fois moins actif que l'ésérine sur la cholinestérase vraie du cerveau de cobaye ;

— la reprise des contractions est quasi-instantanée, ceci suppose plutôt une action musculaire directe qu'un mécanisme enzymatique.

Dans le deuxième groupe, nous retrouvons toutes les substances de la série à fonction ammonium quaternaire curarimimétiques ; leurs actions sont semblables mais elles s'exercent de façon plus ou moins intenses. Le chlorhydrate de thiamine est comparativement le plus actif : l'estérification par l'acide pyrophosphorique (cocarboxylase) ou acétique (acétylthiamine) de la fonction alcool, au lieu d'intensifier l'action, la diminue et la rend plus progressive ; ceci nous a conduit à penser que ces deux dernières substances doivent être hydrolysées avant d'agir, libérant ainsi la thiamine qui peut exercer son activité.

Le remplacement du groupement thiazolique par le groupement pyri-

clinique portant les mêmes substitutions (thiazol et pyridine sont isostères : c'est-à-dire qu'ils ont un même nombre d'électrons π) diminue l'activité de la molécule.

Quoi qu'il en soit, l'existence de propriétés antagonistes de la *d*-TC — substance type des curarimimétiques — dans des molécules elles-mêmes curarimimétiques, est *a priori* un phénomène contradictoire. Quelles explications pouvons-nous en fournir ?

B. MINZ, dans son ouvrage sur la « transmission chimique de l'influx nerveux » [214] insiste beaucoup sur l'effet sensibilisateur exercé par la thiamine, vis-à-vis de l'acétylcholine, sur diverses préparations. De nombreuses expériences sont citées à l'appui de ce phénomène. Nous avons, nous-même, observé cette sensibilisation à l'acétylcholine sur la préparation nerf phrénique-diaphragme de Rat : en effet, la thiamine avant de bloquer la transmission, potentialise la contraction maximale du diaphragme ; cette potentialisation correspond à la sensibilisation de l'acétylcholine libérée normalement à chaque excitation du nerf moteur. Cette même action n'a pu être retrouvée sur le *rectus abdominis* de Grenouille : remarquons, toutefois, que dans ce dernier cas, l'acétylcholine est exogène, que la thiamine n'est peut-être pas capable de renforcer son action, alors qu'elle renforcerait l'acétylcholine libérée physiologiquement.

B. MINZ envisage deux possibilités pour interpréter cette action sensibilisante de la thiamine :

- une action inhibitrice de la cholinestérase,
- une intervention active dans la synthèse de l'acétylcholine.

Nous avons déjà dit ce que nous pensions de la faible activité anticholinestérasique observée *in vitro* et en raison des hypothèses tout à fait gratuites qu'il faut émettre, pour admettre une telle activité dans l'organisme, il nous est difficile d'expliquer l'antagonisme de la *d*-TC par un mécanisme anticholinestérasique.

Faut-il alors, avec B. MINZ [214], admettre l'intervention de la thiamine ou plus précisément de la cocarboxylase dans la synthèse de l'acétylcholine au niveau des récepteurs ? L'auteur cite de nombreux arguments plaidant en faveur d'une telle intervention. Sous l'action de la cocarboxylase, il y aurait ainsi davantage d'acétylcholine libérée à chaque stimulation nerveuse et par conséquent l'équilibre compétitif entre *d*-TC et acétylcholine serait en faveur de cette dernière ; la transmission serait ainsi rétablie. Cette hypothèse n'est pas très satisfaisante, car dans l'action anti-*d*-TC, la cocarboxylase est le composé le moins actif.

Comment, d'autre part, expliquer le phénomène de « *tachyphylaxie* » très prononcé que l'on observe pour cet antagonisme et pourquoi la généralisation à d'autres substances curarimimétiques a-t-elle été impossible malgré de nombreuses expériences faites dans ce sens ?

Autant de questions qui nécessiteront une étude ultérieure plus approfondie.

Les trois composés constituant le troisième groupe ont leur azote thiazolique tertiaire, et même formamidé dans la S-thiopropylthiamine. Parmi ces trois substances, seule la méthyl-4 hydroxy éthyl-5 thiazole a fait, à notre connaissance, l'objet d'une étude physiologique. Z. M. BACQ [13], VANREMOORTERE [284], VANREMOORTERE et LECOMTE [285] ont montré l'effet sensibilisateur au potassium d'une telle molécule ; elle rentrerait dans la classe des sensibilisateurs, non décurarisants, à côté de l'ion sulfocyanure, bien que beaucoup moins actif que ce dernier.

Nous ne savons pas si les deux autres composés possèdent une telle propriété, mais le dérivé thiazolique se différencie des deux autres par une action plus progressive : la recurarisation observée s'est toujours effectuée plus lentement ; ceci laisse à penser qu'une transformation biochimique, que la libération d'une substance intermédiaire ou qu'une réaction enzymatique soient indispensables pour que l'effet ait lieu. Avec le dérivé pyrimidique, l'action est instantanée, alors qu'elle est très faible avec la S-thiopropylthiamine.

Ces composés exercent à fortes doses une très légère action dépressive sur la contraction du muscle stimulé par voie indirecte. Cette action est-elle plus intense sur un muscle curarisé ? Nous ne l'avons pas observé sur un muscle paralysé par un acétylcholinomimétique. Si les groupements pyrimidiques et thiazoliques sont sans effet sur une telle paralysie, la S-thiopropylthiamine présente un effet antagoniste net presque uniquement sur le soléaire du Chat.

Il nous paraît prudent d'en rester à nos seuls résultats expérimentaux sans pouvoir en donner une explication trop hypothétique.

3° ACTIONS ANTI-ACÉTYLCHOLINOMIMÉTIQUES :

Elle dépasse les limites que nous nous sommes fixés dans le présent travail. Nous ne les avons citées que dans la mesure où elles peuvent faciliter l'interprétation des résultats que nous avons obtenus au niveau de la jonction neuromusculaire.

L'explication d'une telle action peut être simple pour les dérivés à propriétés curarimimétiques : on sait en effet l'antagonisme réciproque qui existe entre les deux grands types de curarisants.

Mais pour les autres molécules non curarisantes, seule la structure moléculaire peut être mise en cause.

Peut-on faire un parallélisme entre ces actions et la propriété de la thiamine de favoriser la phosphorylation de l'acide adénylique, ou encore de libérer de l'histamine qui serait responsable des hypotensions observées après injection de thiamine ? Des expériences, dans ce sens, méritent d'être tentées.

IV. — CONCLUSIONS

De cet ensemble de propriétés complexes et parfois contradictoires que peut-on conclure ?

Que les actions de la thiamine au niveau de la jonction neuromusculaire ne sont pas en liaison directe avec ses propriétés vitaminiques, car une antivitamine B₁, la pyramine, possède des propriétés voisines seulement moins marquées. De même, des produits voisins de la thiamine, sans activité vitaminique, ont des actions semblables. D'autre part, la cocarboxylase, forme physiologiquement active, a des effets moins intenses.

D'ailleurs, les doses nécessaires pour mettre en évidence des actions nettes au niveau de la transmission myoneurale sont bien supérieures aux doses vitaminiques : il faut donc considérer ces propriétés comme des actions secondaires, à doses thérapeutiques, mais bien que secondaires ces actions existent toujours et peuvent permettre d'expliquer certains incidents ou accidents survenus lors de thérapeutique intensive et quelque peu exagérée, peut-être sur des sujets particulièrement sensibles.

L'étude de l'activité de la thiamine sur le muscle strié ressemble étrangement à celles qui ont été faites jusqu'ici sur les autres muscles (1), permettant de généraliser — comme l'ont fait certains auteurs (DUFAY [95], MINZ [214]) — ces actions à toutes terminaisons nerveuses périphériques de caractère cholinergique. Cette généralisation nous semble tout à fait acceptable, à l'appui de nombreuses expériences confirmées et dignes de foi.

Nous lèverons tout d'abord une critique générale faite par KAISER [168] sur l'influence du pH des solutions de thiamine administrées. Cet auteur a montré, en effet, que des activités observées par certains auteurs sur le cœur isolé de Grenouille, étaient dues uniquement à l'acidité de la solution. En effet, les solutions de thiamine peuvent avoir, suivant la concentration, des pH allant jusqu'à 2,85 ou 3 ; il est évident qu'une telle acidité importe beaucoup moins pour des administrations intraveineuses qui sont très rapidement neutralisées que pour un liquide nourricier de cœur de Grenouille peu tamponné et de faible volume. Nous avons toutefois vérifié que la thiamine neutralisée juste avant l'injection ne se différenciait aucunement de la thiamine acide.

Si nous voulons résumer en quelques mots l'activité de la thiamine sur la jonction neuromusculaire, nous pouvons dire qu'à certaines doses, on observe des actions allant dans le sens d'un renforcement de l'acétylcholine (action anti-*d*-TC), actions particulières, non reproductibles, alors

(1) GROSS [136], KADNER et coll. [167] rapportent la suppression par la thiamine de l'inhibition du cœur de grenouille par excitation du vague et parlent dans ce cas d'action « curariforme ».

qu'à des doses plus élevées, les propriétés vont dans le sens opposé à l'acétylcholine (action curarisante propre). Cette même opposition renforcement-inhibition a été déjà remarquée par MINZ [214] qui lui attribue les divergences que l'on peut observer entre les résultats expérimentaux de différents auteurs.

Le problème de la dose semble donc essentiel dans toute étude de la thiamine, de nombreux exemples semblables nous sont offerts tant par la physiologie que par la pharmacodynamie.

En comparant l'action de la thiamine et celle de produits voisins ou dérivés, peut-on dire que son action au niveau de la jonction myoneurale soit spécifique ? La fonction ammonium quaternaire joue certainement un rôle essentiel et ceci n'a rien de surprenant ; ce qui l'est plus est de voir le thiochrome, composé à azote tertiaire, exercer des effets semblables, à l'exclusion toutefois des propriétés curarisantes propres.

Les propriétés des groupements constitutifs de la thiamine sont généralement différentes de la molécule-mère, tant d'un point de vue qualitatif que quantitatif.

Enfin, l'atome de soufre ne nous semble pas essentiel à l'activité sur la jonction neuromusculaire, car la pyramine exerce qualitativement des effets identiques, les différences sont simplement d'ordre quantitatif, peut-être liées aux différences de perméabilité ou d'élimination.

Ces conclusions ne font donc pas la pleine lumière sur le comportement intime de la thiamine au niveau de la synapse neuromusculaire : elles confirment en tout cas l'importance de l'interaction thiamine-acétylcholine, probablement due à la présence dans ces molécules d'une fonction ammonium quaternaire et d'une fonction alcool primaire.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES ⁽¹⁾

(1) Certaines remarques préliminaires s'imposent : nos résultats ont été obtenus en utilisant un montage nerf-muscle *in situ*, la préparation nerf sciatique-muscle tibial antérieur du Lapin, dont ce travail nous a donné l'occasion de préciser les détails techniques. Nous avons fait appel occasionnellement à d'autres méthodes, préparations neuromusculaires de Chat, de Rat, *rectus abdominis* de Grenouille, Poussins, dans le but de confirmer, d'expliquer ou de généraliser les faits expérimentaux que nous avons constatés chez le Lapin. Dans quelques cas, cette généralisation n'a pas été possible.

De même, nos conclusions ne s'appliquent qu'à la curarisation obtenue par le chlorure de *d*-tubocurarine dont l'action est identique à celle du curare naturel ; dans certains cas, nous avons pu confirmer nos résultats en utilisant d'autres substances du même type, permettant de généraliser l'action aux curarimimétiques.

A la suite de notre étude expérimentale, quelle réponse pouvons-nous faire à la question que nous nous sommes posé au début de ce travail : existe-t-il une ou plusieurs fonctions chimiques soufrées capables de modifier dans un sens ou dans l'autre (antagonisme ou potentialisation) le cours d'une curarisation ?

Les différentes molécules — une centaine — dont nous avons analysé les effets sur la curarisation, possèdent diverses fonctions soufrées qui permettent de les classer en trois grands groupes :

- 1 — les dérivés soufrés minéraux ;
- 2 — les dérivés organiques dont le soufre est divalent : fonctions thiol —SH , thio-éther, —S— , thione =S , disulfure —S—S— ;
- 3 — les dérivés organiques dont le soufre lié à l'oxygène présente une valence élevée : fonctions sulfonée $\text{—SO}_3\text{H}$, sulfone $\text{—SO}_2\text{—}$, sulfonamide $\text{—SO}_2\text{N}<$.

DÉRIVÉS SOUFRES MINÉRAUX :

Sur les trois anions étudiés, deux modifient la curarisation (voir tableau XVIII), le troisième est inactif.

L'anion *hyposulfite* — sous forme de sel de sodium — est capable d'antagoniser les effets des substances curarimimétiques. Cette action est faible et peut être modifiée par les effets propres du cation : dans les sels de calcium et de potassium, l'antagonisme qu'exerce l'anion est exalté, alors qu'il est inversé partiellement dans le sel d'ammonium et totalement dans celui de magnésium.

Nous avons admis que cet effet antagoniste était lié à la sensibilisation qu'exercerait l'anion hyposulfite vis-à-vis du potassium, physiologiquement présent au niveau de la plaque motrice et doué de propriétés décurarisantes.

L'anion *tétrathionate* potentialise faiblement la curarisation. Cet effet est exalté avec le sel de diéthylamine.

L'ion *sulfocyanure*, malgré la puissante sensibilisation au potassium qu'il est capable d'exercer, ne modifie pas l'action curarisante.

DÉRIVÉS SOUFRES ORGANIQUES DONT LE SOUFRE EST DIVALENT :

Ce groupe comprend les acides aminés soufrés et dérivés de poids moléculaire voisin, les thio-urées, quelques dérivés hétérocycliques, les dérivés de la thiamine, de la thio-hydantoïne et les thiobarbituriques. Les résultats obtenus avec ces différents composés ont été rassemblés dans le Tableau XIX.

Les *acides aminés soufrés* et produits voisins potentialisent faiblement mais de façon généralement prolongée la curarisation ; le groupe de la cystéine paraît le plus actif. La transformation d'un groupement —SH en groupement $\text{—SO}_3\text{H}$ (cystéamine et taurine) diminue l'acti-

TABLEAU XVIII

**Modifications de la curarisation ⁽¹⁾
exercées par quelques dérivés soufrés minéraux**

	Potentialisation	Antagonisme
Hyposulfite de sodium		+
Hyposulfite de calcium		++
Hyposulfite de potassium		+++
Hyposulfite de magnésium	+++	
Hyposulfite d'ammonium ⁽²⁾	++	
Tétrathionate de sodium	+	
Tétrathionate de diéthylamine	++	
Sulfocyanure de sodium	0	0

tivité : la fonction thiol semble donc importante ; l'acétylation de la fonction amino-acide exalte l'effet potentialisateur.

Les dérivés de la *thio-urée* ont des propriétés différentes, suivant que la substitution se fait sur l'azote ou sur le soufre : la thio-urée et ses dérivés N-substitués (diméthyle, tétraméthyle, isobutyryle) sont inactifs, par contre, les dérivés S-substitués (dérivé de l'isothio-urée) exercent des effets stimulants sur la contraction normale suffisamment puissants chez le dérivé méthyle pour entraîner des propriétés anticurares ; chez l'amino-éthyle et la benzylisothio-urée, ces effets stimulants sont plus faibles et masqués sous les propriétés potentialisatrices de la curarisation.

Les quelques composés *antithyroïdiens* étudiés se sont montrés pratiquement inactifs. Un acide hétérocyclique voisin, l'acide 2-thénoïque potentialise de façon rapide et quelquefois prolongée les effets de la *d*-tubocurarine.

A des doses bien supérieures aux doses vitaminiques, la *thiamine* et ses *esters* (phosphorique et acétique), ainsi que la pyramine, sont doués de propriétés curarisantes comparables à celles de la *d*-tubocurarine ; ils sont pourtant capables d'antagoniser l'action de cet alcaloïde, de façon toutefois particulière : l'effet antagoniste s'annule puis s'inverse lors

(1) L'intensité de l'action est proportionnelle au nombre de croix.

(2) Action polyphasique : légère potentialisation - antagonisme puis potentialisation.

d'une deuxième ou troisième expérience sur le même animal (phénomène de tachyphylaxie).

Le thiochrome et les dérivés quaternaires du groupement thiazolique de la thiamine exercent des effets anticurarimimétiques constants et reproductibles, explicables pour les dérivés quaternaires par leurs propriétés dépolarisantes.

Dans ce groupe, la fonction soufrée n'est pas indispensable, car la pyramine, dans laquelle le cycle thiazolique de la thiamine est remplacé par un cycle pyridinique, possède une activité à peu près comparable à celle de la thiamine ; seule importe la fonction ammonium quaternaire.

Parmi quelques *dérivés de l'hydantoïne*, nous avons recherché l'influence de la substitution d'atomes de soufre et de radicaux alcoyles sur l'activité. Seuls sont capables d'exercer une action anticurarimimétique, les diméthyl et méthyl éthyl dithiohydantoïnes : la présence de deux atomes de soufre et la substitution par des radicaux légers sont indispensables ; en effet, les dérivés à chaînes latérales plus longues ou à un seul atome de soufre sont soit inactifs, soit légèrement potentialisants.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence de différences nettes entre le *mébubarbital* et son analogue soufré, le *penthiobarbital* : tous deux potentialisent faiblement la contraction musculaire normale, mais seul, à plus fortes doses, le dérivé oxygéné est doué de propriétés curariformes ; tous deux potentialisent faiblement la curarisation, le dérivé soufré est le moins actif et peut même présenter dans certaines conditions expérimentales des propriétés antagonistes.

Quel est le lieu et le mécanisme d'action de tous ces dérivés ?

Nous avons apporté des faits expérimentaux sans avoir trouvé pour eux d'explications satisfaisantes.

La fonction thiol est réputée posséder une affinité particulière pour les protéines, elle peut interférer — par exemple — avec certaines enzymes, avec les protéines actives de la fibre musculaire, en modifiant les réactions d'une préparation neuromusculaire. L'inhibition ou l'activation de cholinestérase ne peuvent être mises en cause.

Peut-on invoquer une action sur le co-enzyme A, responsable de la biosynthèse de l'acétylcholine ? L'activité de son chaînon terminal, constitué par la β -mercapto-éthylamine ou cystéamine, pourrait être soit exaltée, soit au contraire gênée par la présence de composés soufrés de structure voisine. Seules des études biochimiques particulières pourront nous renseigner sur ce point.

DÉRIVÉS SOUFRÉS ORGANIQUES DONT LE SOUFRE EST LIÉ

A L'OXYGÈNE :

Ce groupe comprend des molécules sulfonées (matières colorantes — dérivés de l'arsenic tri ou pentavalent — polysaccharides anticoagulants

TABLEAU XIX

**Modifications de la curarisation (1)
exercées par quelques dérivés soufrés organiques**

	Potentiali- sation	Antago- nisme
Cystéine	+	
Cystéamine	+	
Amino-éthylisothio-urée	+ +	
Taurine	±	
Homocystéine	±	
Méthionine	±	
Acétylméthionine	+ +	
Hydantoïne de la méthionine	±	
Thio-urée	0	0
Diméthylthio-urée	0	0
Tétraméthylthio-urée	0	0
Méthylisothio-urée		+ +
Benzylisothio-urée	+	
Dimercaprol	+	
Aurothiopropanolsulfonate	±	
Bromure de dithiocholine		+ +
Acide 2-thénoïque	+ +	
Mercaptothiazoline	0	0
Amino-2-thiazole	0	0
Propylthio-uracyle	±	
Thiamine		±
Cocarboxylase		±
Acétylthiamine		±
Thiochrome		+ +
Grpt. pyrimidique tertiaire de la thiamine.	±	
Grpt. thiazolique tertiaire de la thiamine.	±	
Grpt. thiazolique quaternaire de la thiamine		- +
Ester chlorhydrique du précédent		+ +
S-thiopropylthiamine	±	
Pyramine		±
Diméthylthiohydantoïne		+ +
Méthyléthylthiohydantoïne		+ +
Diméthylthio-2-hydantoïne	0	0
Diméthylthio-4-hydantoïne	0	0
Diméthylhydantoïne	0	0
Isobutyrylthio-urée	0	0
Cyclohexylthiohydantoïne	0	0
Diéthylthiohydantoïne	+	
Diphénylthiohydantoïne	+	
Diphénylthiohydantoïne	+	
Diphénylhydantoïne	+	
Méubarbital	+	
Penthiobarbital	+	?
Somnifène *	+ +	

(1) L'intensité de l'action est proportionnelle au nombre de croix.

naturel ou de synthèse) ou des molécules sulfamidées (antibiotiques — inhibiteurs tubulaires ou de l'anhydrase carbonique — hypoglycémiantes). Nous avons réuni dans le Tableau XX les modifications de la curarisation qu'exercent ces différents composés.

Tous les *dérivés sulfamidés*, y compris l'Hectine*, potentialisent les effets de la *d*-tubocurarine ; cette action est plus ou moins rapide, mais le plus souvent prolongée pour des doses allant — suivant les dérivés — de 10 à 100 mg/kg ; l'acétazolamide, le chlorothiazide, et le probenecid sont les plus actifs.

Toutes les *molécules polysulfonées anticoagulantes* antagonisent chez le Lapin, les effets paralysants des curarimimétiques. Stable pour l'héparine, cette action est fugace pour les autres composés.

Tous les *dérivés arsenicaux* contenant du soufre (fonction sulfonate ou sulfoxylate) sont anticurarimimétiques : l'effet antagoniste est rapide et stable, il nécessite des doses élevées de phénarsone sulfoxylate (dérivé à arsenic pentavalent).

Les *colorants* sont les uns antagonistes, les autres potentialisants, sans que de grandes différences de structure chimique puissent expliquer ces effets opposés (amarante AS — rouge solide E — Est 3 — Est 4 sont quatre isomères de position). Parmi les potentialisants, deux composés sont particulièrement actifs, le naphthylaminodisulfonate de sodium et la phénolsulfonephtaléine. Parmi les anticurarisants, le rouge Congo, la suramine sodique (assimilée quoiqu'incolore au groupe des colorants), le noir 5410 ont les effets les plus marqués.

Outre leur fonction soufrée, ces 52 composés possèdent quelques propriétés communes :

- ce sont des électrolytes de caractère électronégatif ;
- ils sont capables de se combiner avec les protéines ;
- les composés à fonction aminée sont plus actifs que les dérivés hydroxylés.

Certains caractères, au contraire, différencient les dérivés qui potentialisent et ceux qui antagonisent la curarisation :

- les potentialisateurs, à quelques exceptions près, sont de faible poids moléculaire et ne forment pas *in vitro* à pH 7,4 de combinaison avec la *d*-tubocurarine (1) ;
- les antagonistes sont de poids moléculaire généralement élevé ; ils forment tous *in vitro* à pH 7,4 une combinaison avec la *d*-tubocurarine ; ils sont actifs sur la coagulation sanguine (2).

Ces différentes propriétés nous ont permis d'envisager deux mécanismes d'action, susceptibles d'expliquer nos résultats expérimentaux ;

(1) Quand cette combinaison se forme, elle est très peu stable.

(2) Propriété rencontrée chez quelques dérivés potentialisant la curarisation.

TABEAU XX

Modifications de la curarisation (1) exercées par quelques dérivés soufrés organiques

	Potentialisation	Antagonisme	Potentialisation		Antagonisme
Jaune de Martius S	+		Vert Guinée B	+	
Naphtionine	+		Violet acide 6 B (2)	±	
Glucoside de la naphthionine	+		Bleu brillant	+	
Naphtylaminodisulfonate	±		Vert Lumière	+	
Est 2	+		Acide sulfanilique	+	
Ecarlate G.N.	+		Sulfanilamide	+	
Ponceau SX	±		Naphtazosulfamide	+	
Amaranthe A.S. (2)	+	+	Sulfathio-urée soluble	+	
Rouge solide E	+		Noprylsulfamide	+	
Est 3 (2)	±	±	Phénopryldiasulfone	+	+
Est 4 (2)	+		Acétazolamide	+	+
Est 1 ou Ponceau 4 R	+		Chlorothiazide	+	+
Noir brillant		+	Probenecid	+	+
Rouge Congo		+	Glybutiazol	+	+
Rouge trypan		+	Saccharine	+	+
Bleu trypan		±	Thio-arsphénamine		+
Bleu Evans		+	Néo-arsphénamine		+
Afridol violet		+	Arsphénamine		+
Suramine sodique		+	Hectine *	+	+
Noir 5410		+	Phénarsonesulfoxyate		
Phénophthaléine		+	Acétarsol	0	
Tétraiodophénophthaléine (2)	0	0	Héparine		+
Phénoltétrachlorophthaléine (2)	+	+	Liquoïde (2)		+
Phénolsulfonophthaléine	+	+	Dextrarine *		+
Rouge de bromophénol	+	+	Tréburon *		+
Bleu de bromophénol	0	0	Négafol * (3)		+

(1) L'intensité de l'action est proportionnelle au nombre de croix.

(2) La mise en évidence de l'action est gérée par la toxicité du produit.

(3) Antagonisme obtenu après « saturation » préalable de l'animal par le produit.

1° LIAISON AVEC LES PROTÉINES :

Tous les dérivés étudiés paraissent capables de se fixer sur les protéines. Mais comment cette même propriété peut-elle conduire, suivant le cas, à un antagonisme ou une potentialisation de la curarisation ? Nous avons pour cela fait appel aux conceptions de H. VELDSTRA sur l'antagonisme et la potentialisation : Toute substance active est capable de se fixer sur des récepteurs spécifiques où elle agit et sur des récepteurs aspécifiques où elle est inactivée ou stockée. Les molécules susceptibles de modifier l'action de cette substance active déplaceraient cette dernière ou entreraient en compétition avec elle, soit au niveau des récepteurs spécifiques en produisant un antagonisme, soit au niveau des récepteurs aspécifiques en produisant une potentialisation par « déstockage » de substance active.

La *d*-tubocurarine se fixe sur les récepteurs spécifiques de la plaque motrice, elle est capable — comme il a été récemment montré — de former avec les protéines plasmatiques (récepteurs aspécifiques) une combinaison inactive. Peut-on admettre que les molécules soufrées vont déplacer ou entrer en compétition avec la *d*-tubocurarine ? C'est peu probable, étant donné la grande affinité des ammoniums quaternaires — au niveau des récepteurs spécifiques — mais nous pouvons retenir ce mécanisme au niveau des récepteurs aspécifiques, comme le fait D. BOVET pour expliquer la potentialisation du curare.

2° COMBINAISON ENTRE CURARISANT ET DÉRIVÉ SOUFRÉ :

Une explication générale, utilisant les conceptions de VELDSTRA, pourrait être basée sur la formation d'une telle combinaison :

— si la liaison curarisant-dérivé soufré est plus forte — compte tenu de la loi d'action de masse — que la liaison curarisant-récepteur spécifique, le dérivé soufré est antagoniste ;

— si la liaison curarisant-dérivé soufré est moins forte que la liaison curarisant-récepteur spécifique, mais toutefois plus forte que la liaison curarisant-récepteur aspécifique, le dérivé entraîne une potentialisation par déstockage ;

— enfin, si la combinaison curarisant-dérivé soufré est très labile, le dérivé soufré est inactif.

C'est le degré de stabilité de la combinaison curarisant-dérivé soufré qui orienterait l'action de ce dernier. Cette explication est séduisante, mais elle suppose que tout dérivé antagoniste ou potentialisant soit capable de se combiner avec les molécules de curarisant. Nous n'avons pu le démontrer que pour les seuls antagonistes ; nous ne pouvons retenir que pour eux seuls cette hypothèse d'action.

L'influence que diverses molécules soufrées sont capables d'exercer sur la curarisation n'est pas sans conséquences pratiques : si on admet que de tels effets sont susceptibles de se produire chez l'Homme, il faudrait, avant une intervention chirurgicale sous curare, supprimer tout traitement à base de médicaments, tels les sulfamides, qui modifient à des doses inférieures ou égales aux doses thérapeutiques habituelles, l'activité des substances curarisantes.

Nous n'avons exploré dans le présent travail qu'un domaine très restreint d'un chapitre quelque peu délaissé de la Pharmacologie ; en effet, les modifications qu'un médicament exerce sur les propriétés d'un autre médicament n'ont été l'objet que d'études particulières ou occasionnelles. A l'heure où des thérapeutiques complexes sont largement utilisées, une étude expérimentale plus vaste et plus systématique serait souhaitable.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

(Les nombres placés entre parenthèse après chaque référence correspondent aux pages où ces références sont citées.)

1. ACHESON (G. H.). — Physiology of neuromuscular junctions : chemical aspects. *Feder. Proc.* : 1948, **7**, 447-457. (26, 38, 52, 105, 110, 111).
2. AESCHLIMANN (J. A.) et REINERT (M.). — The pharmacological action of some analogues of Physostigmine. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1931, **43**, 413-444. (54).
3. ALADJEMOFF (L.), DIKSTEIN (S.) et SHAFRIR (E.). — The binding of *d*-tubocurarine chloride to plasma protéins. *J. Pharmacol. exper. Thérap.* : 1958, **123**, 43-47. (154).
4. ALTAMIRANO (M.) et HUIDOBRO (F.). — Some actions of potassium chloride at the neuromuscular junction. *Amer. J. Physiol.* : 1948, **152**, 53-65. (111).
5. AMBRUS (G.) et AMBRUS (G.). — Effect of hyperthyroidism and treatment with thio-uracyl on the cholinesterase level. *Arvosok Lapja és Népegészségügy* : 1947, **3**, 865-867; *Chem. Abst.* : 1949, **43**, 9244 i. (133, 135).
6. AMMON (R.). — Die Hemmungs-körper der Cholinesterase. *Ergebn. Enzymforsch.* : 1943, **9**, 35-69. (94).
7. AMMON (R.) et VOSS (G.). — Die acetylcholinzerstörende Wirkung des Blutes. *Arch. ges. Physiol.* : 1935, **235**, 393-400. (94).
8. ANTOPOL (W.), GLAUBACH (S.) et GLICK (D.). — Choline-esterase activity in blood serum and duodenum of beriberi pigeons. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* : 1939, **42**, 679-683. (257).
- 8 bis. ARIENS (E. J.). — Affinity and intrinsic activity in the theory of competitive inhibition. Part. I : *Arch. internation. Pharmacodyn. Therap.* : 1954, **99**, 32-49; Part. II : *ibid.* 175-187; Part. III : *ibid.*, 193-205 (52).
9. ASHKENAZ (E. W.). — Magnesium narcosis in muscle. *J. cell. comp. Physiol.* : 1938, **11**, 163-174. (112).
10. AUER (J.) et MELTZER (S. J.). — The effect of ether inhalation upon the skeletal motor mechanism. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1914, **5**, 521-522. (82).
11. BACQ (Z. M.). — Ions et corps vératriniqes. *Arch. internation. Pharmacodyn. Therap.* : 1939, **63**, 59-87. (104, 106, 112, 112).
12. BACQ (Z. M.). — Le sulfocyanure, l'hyposulfite et la colchicine oxydée, substances vératriniqes. *Arch. internation. Pharmacodyn. Therap.* : 1942, **67**, 323-333 (105, 114).
13. BACQ (Z. M.). — Les sensibilisateurs au potassium. *Bull. Acad. r. med. Belg.* : 1947, **12**, 255-75. (105, 114, 263).
14. BACQ (Z. M.). — Le potassium en biologie. III^e Congrès International de Thérapeutique, Madrid : 1952, 3-14 (100).

15. BACQ (Z.M.). — Mode d'action des substances protégeant les organismes vivants contre les radiations ionisantes. *Actualités pharmacologiques*, 10^e série, Masson édit. Paris : 1957, 5-24. (118, 122).
16. BAILEY (K.) et PERRY (S.V.). — The role of the sulphhydryl groups in the interaction of myosin and actin. *Biochim. Biophys. Acta* : 1947, **1**, 506. (136).
17. BAIN (J.A.). — Enzymatic aspects of barbiturate action. *Feder. Proc.* : 1952, **2**, 653-658. (171).
18. BARNES (J.M.) et DUFF (J.I.). — Acetylcholine production in animals poisoned by diethyl-p-nitro-phenylphosphate (Para-oxon). *Brit. J. Pharmacol.* : 1954, **9**, 153-158. (51).
19. BAUMECKER (W.). — Experimentelle Beiträge zum Antagonismus der Magnesium- und Calciumionen. *Biochem. Z.* : 1923, **142**, 142-158. (111).
20. DE BEER (E.J.). — *Proceedings of the conference on the myoneural junction* : 1955, Papper et de Beer édit. N. Y. : 1956, 158-159. (57).
21. BERGER (F.M.). — The mode of action of Myanesin. *Brit. J. Pharmacol.* : 1947, **2**, 241-250. (33).
22. BERGER (F.M.) et BRADLEY (W.). — The pharmacological properties of α - β dihydroxy γ (2-methylphenoxy) propane (Myanesin). *Brit. J. Pharmacol.* : 1946, **1**, 265-272. (33).
23. BERGER (F.M.) et BRADLEY (W.). — Muscle-relaxing action of Myanesin. *Lancet* : 1947, **252**, 47. (33).
24. BERNARD Claude. — Leçons sur les effets des substances toxiques et médicamenteuses. Baillière édit. Paris : 1857. (47).
25. BOURDELLE (J.) et BRESSOU (C.). — Anatomie régionale des animaux domestiques. IV Carnivores : Chien et Chat. Baillière édit. Paris : 1953, 502 pages (88, 88).
26. BOVET (D.). — Some aspects of the relationship between chemical constitution and curare-like activity. *Ann. New-York Acad. Sci.* : 1951, **54**, 407-437. (52).
27. BOVET (D.). — Rapports entre constitution chimique et activité pharmacodynamique dans quelques séries de curares de synthèse. *Curare and curare-like agents*. Symposium international de Rio de Janeiro. Elsevier, édit. : 1959, 252-287. (40).
28. BOVET (D.), BOVET-NITTI (F.), BETTSCHART (A.) et SCOGNAMIGLIO (W.). — Mécanisme de la potentialisation par le chlorhydrate de diéthylamino-éthyl-diphényl-propylacétate des effets de quelques agents curarisants. *Helv. Physiol. Acta* : 1956, **14**, 430-440. (60, 153, 155).
29. BOYD (T.E.), BROSNAN (J.J.) et MAASKE (C.O.). — The summation of facilitating and inhibition effects at the mammalian neuromuscular junction. *J. Neurophysiol.* : 1938, **1**, 497-507. (71).
30. BRAND (H.). — À propos du mode d'action du Décaméthonium (C_{10}) et de l'Amyltriméthylammonium sur la préparation isolée nerf phrénique-diaphragme du Rat. *Experientia* : 1952, **8**, 273. (65).
31. BREMER (F.). — Nerve and synaptic conduction. *Annu. Rev. Physiol.* : 1947, **9**, 457-476. (26).
32. BRETEAU (P.). — Les arsénobenzènes; méthodes d'analyse et d'appréciation chimique. *J. Pharm. Chim.* : 1927, **5**, 521-525. (183).

33. BRINK (F.). — The role of calcium ions in neural processes. *Pharmacol. Rev.* : 1954, **6**, 243-298. (107).
34. BRISCOE (G.). — Selective action of small doses of curarine for certain rates and strengths of stimulation. *J. Physiol.* : 1935, **84**, 43P-44P. (71).
35. BROWN (A.C.) et FRASER (T.R.). — On the changes produced by direct chemical addition on the physiological action of certain poisons. *Proc. Roy. Soc. Edimb.* : 1867-1868, **6**, 228-232. (40).
36. BROWN (A.C.) et FRASER (T.R.). — On the connection between chemical constitution and physiological action. I. Ammonium salts derived from atropia and conia. II. Salts of ammonia, of trimethylamine and of tetramethyl-ammonium; of atropia and of the ammonium bases derived from it; of tropic acids, of methyl — ethyl strychnium. *Proc. Roy. Soc. Edimb.* : 1868-1869, **6**, 461-464. 1868-1869, **6**, 556-561. (40).
37. BROWN (A.C.) et FRASER (T.R.). — On the connection between chemical constitution and physiological action. III. On the physiological action of the salts of trimethylsulphin. *Proc. Roy. Soc. Edimb.* : 1871-1872, **7**, 663-665. (40, 42).
38. BROWN (G. L.). — The action of potassium chloride on mammalian muscle. *J. Physiol.* : 1937, **91**, 4-5P. (109).
39. BROWN (G. L.), DALE (H. M.) et FELDBERG (W.). — Reactions of the normal mammalian muscle to acetylcholine and to eserine. *J. Physiol.* : 1936, **87**, 394-424. (82).
40. BROWN (G. L.) et VON EULER (U. S.). — The after effects of a tetanos on mammalian muscle. *J. Physiol.* : 1938, **93**, 39-60. (59, 89, 109).
41. BRÜCKE (F.), KOBINGER (W.) et KRAUPP (O.). — Über den Antagonismus von Kongorot und anderen Substanzen gegenüber quartären Ammoniumbasen. *Arch. exper. Pathol. Pharmacol.* : 1955, **224**, 123-136. (142, 207, 208, 215, 216, 218 240).
42. BUCHTHAL (F.) et LINDHARD (J.). — Acetylcholine block of the motor end-plate and electrical stimulation of nerve. *J. Physiol.* : 1939, **95**, 59-60P. (109).
43. BÜLBRING (E.). — Observations on the isolated phrenic nerve-diaphragm preparation of the Rat. *Brit. J. Pharmacol.* : 1946, **1**, 38-61. (94).
44. BÜLBRING (E.) et BURN (J. H.). — The interrelation of prostigmine, adrenaline and ephedrine in skeletal muscle. *J. Physiol.* : 1942, **101**, 224-235. (86).
45. BÜLBRING (E.) et CHOU (T. C.) — The relative activity of prostigmine homologues and other substances as antagonists to tubocurarine. *Brit. J. Pharmacol.* : 1947, **2**, 8-22. (54).
46. BURGEN (A.S.V.), DICKENS (F.) et ZATMAN (L. J.). — The action of botulinum toxin on the neuromuscular junction. *J. Physiol.* : 1949, **109**, 10-24. (34).
47. BURNS (B. D.) et PATON (W. B.). — Depolarization of the motor end-plate by decamethonium and acetylcholine. *J. Physiol.* : 1951, **115**, 41-73 (49, 50).
48. BUTTLE (G.A.M.) et ZAIMIS (E. J.). — The action of decamethonium iodide in birds. *J. Pharm. Pharmacol.* : 1949, **1**, 991-992. (45).
49. CASTILLO (J. del) et ENGBAEC (L.). — The nature of the neuromuscular block produced by magnesium. *J. Physiol.* : 1954, **124**, 370-384. (112).

50. CAVALLI (G. F.). — Interno alla capacita della caronamide di venderegli animali maggiormente sensibili all'azione paralizzante della *d*-tubocurarina. *G. ital. Anesth.* : 1951, **17**, 35-40. (60, 151).
51. CAVALLITO (C. J.), SORIA (A. E.) et HOPPE (J. O.). — Amino-and ammonium alky-laminobenzoquinones as curarimimetic agents. *J. amer. chem. Soc.* : 1950, **72**, 2661-2665. (29).
52. CAVIER (R.). — Héparine et Héparinoïdes de synthèse. Etude chimique. *Thérapie* : 1955, **10**, 203-213. (190, 191).
53. CHAGAS (C.). — Studies on the mechanism of curare fixation by cells. *Curare and Curare-like agents*. Symposium international de Rio de Janeiro. Elsevier édit. : 1959, 327-345. (29).
54. CHAPMAN (L. M.), GREENBERG (D. M.) et SCHMIDT (C. L. A.). — Studies on the nature of the combination between certain acid dyes and proteins. *J. biol. Chem.* : 1927, **72**, 707-729. (236).
55. CHEYMOL (J.). — Curares naturels et curares de synthèse. *Actualités pharmacologiques*, 1^{re} série. Masson édit. Paris : 1949 : 1-52. (38, 40).
56. CHEYMOL (J.). — Promenade parmi les curares de synthèse. *Acta Inst. Anesth.* : 1953, **4**, 185-217. (40).
57. CHEYMOL (J.). — Curares et anticurares de synthèse. Mécanismes d'action. *Actualités pharmacologiques*, 7^e Série, Masson édit., Paris : 1954, 35-71. (40, 43, 52).
58. CHEYMOL (J.). — Substances anti-coagulantes et action anticurarimimétique. *Thérapie* : 1956, **11**, 102-103. (236).
59. CHEYMOL (J.). — Appréciation qualitative et quantitative d'une substance curari-sante. *Thérapie* : 1957, **12**, 321-356; *Techniques Pharm.* : 1957, **4**, n° 8 (Journées Pharm. Fr. 1956) (42, 44, 46, 64, 93).
60. CHEYMOL (J.). — Leçon inaugurale. Chaire de Pharmacologie et Matière Médicale. *La Presse médicale* : 1958, **66**, 1081-1085. (28).
61. CHEYMOL (J.) et BOURILLET (F.). — Action antagoniste de substances se rattachant à la thiamine vis-à-vis des effets paralysants musculaires de curarisants acétyl-cholinomimétiques. *C. R. Acad. Sci.* : 1956, **242**, 195-197. (57, 250).
62. CHEYMOL (J.) et BOURILLET (F.). — Antagonisme de la thiamine et de substances du même groupe vis-à-vis des effets paralysants musculaires des curarisants acétylcholinomimétiques. *Dansk. T. Farm. Suppl. II* : 1956, 65-68.; *J. Physiol.* : 1956, **48**, 445-447. (57, 250).
63. CHEYMOL (J.) et BOURILLET (F.). — Influence de quelques dérivés du triphénylmé-thane sur la paralysie *d*-tubocurarinique. *Thérapie* : 1959, **14**, 55-62. (207, 228, 229).
64. CHEYMOL (J.) et BOURILLET (F.). — Potentialisation, par quelques sulfamides, des effets paralysants de la *d*-tubocurarine. *J. Physiol.* : 1959, **51**, 433-434 et *Thé-rapie* : 1959, **14**, (sous presse). (142).
65. CHEYMOL (J.), BOURILLET (F.) et BALESTRIERI (M.). — Action anticurarimimétique de certains hyposulfites. *C. R. Soc. Biol.* : 1954, **148**, 1062-1065. (100, 101, 103).
66. CHEYMOL (J.), BOURILLET (F.) et ESTÈVE (A.). — Composés naphtaléniques mono ou polysulfonés et curarimimétiques. *Thérapie* : 1958, **13**, 251-256. (56, 207, 214).

67. CHEYMOL (J.), BOURILLET (F.) et KERP (L.). — Action antagoniste de la thiamine vis-à-vis des effets paralysants musculaires de curarisants acétylcholinomimétiques. *C. R. Acad. Sci.* : 1955, **241**, 530-532. (57, 250).
68. CHEYMOL (J.), BOURILLET (F.) et LEVASSORT (C.). — Pouvoir anticurarimimétique de quelques molécules polysulfonées chez le Lapin. *Thérapie* : 1955, **10**, 616-624. (191, 192, 195, 196, 197, 199, 200).
69. CHEYMOL (J.), BOURILLET (F.) et LEVASSORT (C.). — Action anticurarimimétique de l'héparine et d'héparinoïdes de synthèse chez le Lapin. *J. Physiol.*, 1955, **47**, 132-136. (191, 192, 195, 196).
70. CHEYMOL (J.), BOURILLET (F.) et LEVASSORT (C.). — Action anticurarimimétique de molécules arsenicales organiques chez le Lapin. *Thérapie* : 1955, **10**, 748-755. (176, 177, 178, 179, 180, 181, 181, 182).
71. CHEYMOL (J.), BOURILLET (F.), LEVASSORT (C.) et KERP (L.). — Sur les actions curarisantes et anticurares de la thiamine et de ses dérivés. *Arch. internation. Pharmacodyn.*, 1957, **3**, 36-59. (57, 58, 246, 247, 247, 249, 250, 252, 254, 256, 257).
72. CHEYMOL (J.), BOURILLET (F.) et PUPPEL (H.). — Action des phénolphtaléines et phénolsulfonephtaléines sur la paralysie musculaire d-tubocurarique. *Thérapie* : 1957, **12**, 72-79. (207, 220, 222, 224).
73. CHEYMOL (J.), CHABRIER (P.), BOURILLET (F.) et LEVASSORT (C.). — Action anticurare de quelques thio-hydantoïnes. *J. Physiol.* : 1954, **46**, 294-297. (54, 162, 164).
74. CHEYMOL (J.), CHABRIER (P.), BOURILLET (F.) et SMARZEWSKA (K.). — Sur l'action curarisante de di-sulfonioms dérivés de la thio-urée. *Thérapie* : 1953, **8**, 929-933 (42, 133).
75. CHEYMOL (J.), CHABRIER (P.) et GAY (Y.). — Action antithyroïdienne et structure moléculaire. Etude des thiohydantoïnes et de leurs éthers méthyliques. *Arch. internation. Pharmacodyn.* : 1951, **87**, 321-333. (160).
76. CHEYMOL (J.) et CORTEGGIANI (E.). — Etude critique des méthodes de standardisation des curares naturels et de synthèse. *Ann. pharm. fr.* : 1949, **7**, 368-395. (61, 93).
77. CHEYMOL (J.), DELABY (R.), CHABRIER (P.), NAJER (M.) et BOURILLET (F.). — Activité acétylcholinomimétique de quelques dérivés de la carbamoylcholine. *Arch. internation. Pharmacodyn.* : 1954, **98**, 161-182. (11, 45).
78. CHOU (T. C.). — A method of estimating curare-like activity on the isolated phrenic-nerve diaphragm preparation of the Rat. *Brit. J. Pharmacol.* : 1947, **2**, 1-7 (71).
79. CHURCHILL-DAVIDSON (H. C.) et RICHARDSON (A. T.). — Motor end-plate differences as a determining factor in the mode of action of neuromuscular blocking substances. *Nature* : 1952, **470**, 617-618. (65).
80. CLOETTA (M.), FISCHER (H.) et VAN DER LOEFF (M. R.). — Die Verteilung und die Wirkung der Magnesiums im Organismus und deren Beeinflussung durch Calcium. *Arch. exper. Pathol. Pharmacol.* : 1942, **200**, 6-42. (111).
81. COPPÉE (G.). — La réponse rythmique du nerf isolé. *Acta biol. belg.* : 1941, **4**, 50-53. (114).
82. COPPÉE (G.). — La transmission neuromusculaire. Curarisation. Décurarisation et renforcement à la jonction myo-neurale. *Arch. internation. Physiol.* : 1943, **53**, 327-507. (26, 105, 106, 109, 109, 111, 114).

83. COPPÉE (G.). — Le rôle des ions calcium dans la transmission neuromusculaire. *Arch. internation. Physiol.* : 1946, **54**, 323-336. (106, 106, 107, 108).
84. COUTEAUX (R.). — Les structures synaptiques : revue des données récentes et leur incidence sur la théorie du neurone. *C. R. Soc. Biol.* : 1953, **147**, 1332-1338. (21).
85. COUTEAUX (R.). — Morphological and cytochemical observations on the post-synaptic membrane at motor end-plates and ganglionic synapses. *Exper. cell. Res.* : 1958, suppl. 5, 294-322. (21, 24, 25, 25).
86. COUTEAUX (R.) et TAXI (J.). — Recherches histochimiques sur la distribution des activités cholinestérasiqes au niveau de la synapse myoneurale. *Arch. Anat. micr. Morphol. exper.* : 1952, **41**, 352-392. (21, 22, 22, 23).
87. COUTEAUX (R.) et TAXI (J.). — Distribution de l'activité cholinestérasiqe au niveau de la synapse myoneurale. *C. R. Acad. Sci.* : 1952, **235**, 434-346. (21).
88. DALLEMAGNE (J.). — Pharmacodynamie des dérivés de l'ammonium quaternaire. *Actualités pharmacologiques*, 4^e série. Masson édit. Paris : 1951, 1-47 (26).
89. DALLEMAGNE (J.) et PHILIPPOT (E.). — La déconnexion neuro-musculaire. *Acta Inst. Anesth.* : 1953, **1**, 171-183. (57, 65).
90. DALLEMAGNE (J.) et PHILIPPOT (E.). — Action of Proguanil and its metabolite on neuro-muscular and synaptic transmission. *Brit. J. Pharmacol.* : 1955, **10**, 147-152 (57).
91. BELLA BELLA (D.), VILLANI (R.) et ZUANAZZI (G. F.). — Über die curare ähnliche Wirkung eines Disulfoniumabkömmlings, des Succinyl (bis) Sulfacholins. *Arch. exper. Pathol. Pharmacol.* : 1956, **229**, 536-543. (42).
92. BELLA BELLA (D.), VILLANI (R.) et ZUANAZZI (G. F.). — Sulle proprietà farmacologica della succinilsolfocolina. *Boll. Soc. ital. Biol. sper.* : 1956, **32**, 483-487. (42).
93. DEMOLE (V.). — Action curarisante de la vitamine B₁. *Kongressber. XVI^e Int. Phys. Kongress. de Zürich* : 1938, p. 39. (244).
94. DHELLEMMES (G.). — Recherche sur la pseudo-cholinestérase du sérum humain. *Thèse Doctorat Universitaire de Pharmacie à Lille* : 1947, réf. : P 30 913 (1947)². (105, 123, 133, 135, 153, 186, 257).
95. DUFAIT (R.). — Influence de l'aneurine et de l'acétylaneurine sur l'action de différentes substances pharmacologiques sur l'utérus et l'intestin. *Arch. internation. Pharmacodyn.* : 1941, **66**, 274-292. (244, 248, 264).
96. DWYER (F. P.), GYARFAS (E. C.), WRIGHT (R. D.) et SHULMAN (A.). — Effect of inorganic complex ions on transmission at a neuromuscular junction. *Nature* : 1957, **179**, 425-426. (42).
97. EAGLE (H.) et DOAK (G. O.). — The biological activity of arsenobenzenes in relation to their structure. *Pharmacol. Rev.* : 1951, **3**, 107-143. (186).
98. ECCLES (J. C.). — Conduction and synaptic transmission in the nervous system. *Annu. Rev. Physiol.* : 1948, **10**, 93-116. (26).
99. EMMELIN (N.). — The action of some indifferent narcotics on the acetylcholine sensibility of the rectus muscle of the frog. *Skand. Arch. Physiol.* : 1940, **83**, 69-76. (171).
100. ENGBAER (L.). — Investigations on the course and localization of magnesium anesthesia and a comparison with ether anesthesia. *Acta pharmacol. toxicol.* : 1948, **4**, suppl. 1, 10-189. (111).

101. ENGBAER (L.). — The pharmacological actions of magnesium ions with particular reference to the neuromuscular and cardiovascular system. *Pharmacol. Rev.* : 1952, **4**, 396-414. (112).
102. ERSPAMER (V.). — Acetilcolina e vitamina B₁. Nota I : Ricerche sugli organi isolati, sulla pressione del sangue e sulla pupilla dell'occhio di coniglio in situ *Arch. internation. Pharmacodyn.* : 1939, **63**, 261-287. (244, 248).
103. ESTÈVE (A.). — Modification des temps de coagulation et de saignement par les dérivés amino-naphtaléniques mono ou polysulfonés. *Ann. pharm. fr.* : 1950, **8**, 593-604. (208, 214).
104. ESTÈVE (A.), CANAL (P.), LANGER (M.), LAPORTE (J.) et RÈGNE (F.). — Le glucoside d'alpha-naphtylamine-4-sulfonate de sodium hémostatique actif par voie digestive. *Ann. pharm. fr.* : 1952, **10**, 680-685. (209).
105. EVERETT (G. M.). — Pharmacological studies of *d*-tubocurarine and other curare factors. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1948, **92**, 236-248. (64).
106. FATT (P.) et KATZ (B.). — The effect of sodium ions on neuromuscular transmission. *J. Physiol.* (London) : 1952, **118**, 73-87. (110).
107. FELDBERG (W.). — The physiology of neuromuscular transmission and neuromuscular block. *Brit. med. J.* : 1951, **1**, 967-976. (20-26).
108. FENG (T. P.). — The local activity around the skeletal neuromuscular junction produced by nerve impulses. *Biol. Symposia* : 1941, **3**, 121-152. (108).
109. FENG (T. P.), LEE (L. Y.), MENG (C. W.) et WANG (S. C.). — Studies on the neuromuscular junction. IX. The after effects of tetanization on neuromuscular transmission in cat. *Chinese J. Physiol.* : 1938, **13**, 79-108. (111).
110. FERRARI (W.). — Variazioni della sensibilità al curaro in seguito alla somministrazione di alcuni farmaci. *Gazz. Sanit. Milano* : 1950, **21**, 197-198. (60, 151).
111. FERRARI (W.) et COSTA (E.). — Ulteriori ricerche sulla attività farmacologica della molecole polisulfonate a potere anticoagulante. Nota I. *Il Farmaco* (Ed. sci.) : 1949, **4**, 668-680. (190, 207, 218).
112. FERRARI (W.) et COSTA (E.). — Ulteriori ricerche sulla attività farmacologica della molecole polisulfonate a potere anticoagulante. Nota 2. *Il Farmaco* (Ed. sci.) : 1949 **4**, 681-695. (207, 215, 216, 217).
113. FERRARI (W.) et VECCHIATI. — Comunicaz. Congresso Soc. ital. Anesth. Bologna. Oct. : 1948. (voir [111]) (190).
114. FESSARD (A.). — Le rôle du potassium dans la transmission neuromusculaire. *Colloque international du C.N.R.S. : Physiopathologie du potassium, Paris* : 1954. (106, 109, 110, 111).
115. FESSARD (A.) et POSTERNAK (J.). — Les mécanismes élémentaires de la transmission synaptique. *J. Physiol.* : 1950, **42**, 319-445. (26, 106).
116. FLANDIN (Ch.) et TZANCK (A.). — Action anticoagulante des injections intraveineuses d'arséno-benzènes. *C. R. Soc. Biol.* : 1921, **84**, 117-118. (186).
117. FLANDIN (Ch.) et TZANCK (A.). — Mécanisme de l'incoagulabilité du sang par les arsénobenzènes. Action sur les globulines. *C. R. Soc. Biol.* : 1921, **85**, 852. (186).
118. FOLDES (F. F.). — Muscle relaxants in anesthesiology. *C. C. Thomas publ. Springfield* : 1957. (52, 57).

119. FOLDES (F.F.). — Current concepts of the mode of action of depolarizing relaxants and their clinical implications. *Curare and Curare - like agents. Symposium international de Rio de Janeiro*. Elsevier édit. Amsterdam : 1959, 478 p. (52).
120. FORBES (A.), Mc INTOSH (R.) et SEFTON (W.). — The effect of ether anaesthesia on the electrical activity of nerve. *Amer. J. Physiol.* : 1916, **40**, 503-513. (82).
121. GARCIA DE JALON (P.D.). — A simple biological assay of curare preparations. *Quat. J. Pharm. Pharmacol.* : 1947, **20**, 28-30 (93).
122. GAUTRELET (J.). — Eléments de techniques physiologiques. Masson Edit. : 1932, 315 p. (85).
123. GERNAY (J.M.) et LECOMTE (J.). — Action of arsenical compounds on frog's striated muscle. *Arch. internation. Pharmacodyn.* : 1948, **77**, 318-326. (184).
124. GILLISEN (G.) et DE LUNA (S.M.). — Sur la toxicité de quelques colorants pour le bacille tuberculeux et son rapport avec la métachromasie. *Bull. Soc. Chim. biol.* : 1948, **30**, 699-709. (236).
125. GITHENS (T.S.) et MELTZER (S.J.). — The nature of the cessation of respiration in ether anesthesia. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1914, **5**, 523. (83).
126. GJONE (E.). — The blocking effect of large doses of thiamin on neuromuscular transmission. *Acta pharmacol. toxicol.* : 1955, **11**, 55-67. (244).
127. GJONE (E.). — The reactions of striated mammalian muscle to variations of the parameters of electrical stimuli applied to nerve and muscle investigated with special regard to experimental technique. *Acta physiol. scand.* : 1955, **34**, 311-328. (72).
128. GJONE (E.). — Some effects of barbituric acid derivatives on the contractile and electrical properties of striated muscle fibre. *Acta pharmacol. toxicol.* : 1956, **12**, 1-10. (170).
129. GJONE (E.) et SKRAMSTAD (K.H.). — Thiamin and cocarboxylase as inhibitors of cholinesterases. *Acta pharmacol. toxicol.* : 1955, **11**, 94-102. (257).
130. GLEY (P.). — Physiologie. *Baillière édit., Paris*, 1951, 511 p. (30, 80).
131. GLICK (D.) et ANTROPOL (W.). — The inhibition of choline esterase by thiamine (vitamine B₁). *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1939, **65**, 389-394. (257).
132. GLICK (D.) et ANTROPOL (W.). — Choline esterase and esters of thiamine. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* : 1939, **42**, 396-399. (257).
133. GOFFART (M.) et DELLA BELLA (D.). — Action de la cystéamine et de la cystamine sur la jonction neuromusculaire. *Arch. internation. Physiol.* : 1954, **62**, 455-475. (121, 121, 129, 129).
134. GOLDIE (H.). — Recherches sur l'action anticoagulante des arsénobenzols. *C. R. Soc. Biol.* : 1936, **121**, 1286-1290. (186).
135. GROSS (E.C.) et CULLEN (S.C.). — The effects of anesthetic agents on muscular contraction. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1943, **78**, 358-365. (82, 82, 83, 169, 171).
136. GROSS (F.). — Die Hemmung der Vaguswirkung durch Aneurin und Desoxycorticosteron. *Helv. physiol. Acta* : 1946, **41**, C47-C48. (264).
137. GROSSMANN (V.) et KASALICKY (B.). — Effect of S-methylisothio-urée on cholinesterase. *Biol. Listy* : 1950, **30**, 229-233. *Chem. Abst.* : 1954, **48**, 7782 h. (133, 133).

138. GRUNDFEST (H.). — Bio-electric potentials on the nervous system and in muscle
Annu. Rev. Physiol. : 1947, **9**, 477-506. (26).
139. GRUNDFEST (H.). — General problems of drug actions on bio-electric phenomena.
Ann. N. Y. Acad. Sci. : 1957, **66**, 537-591. (190).
140. GUYTON (A. C.) et REEDER (R. C.). — The dynamics of curarization. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1949, **97**, 322-330. (59, 71).
141. HAJDU (S.), KNOX (J.A.C.) et Mc DOWALL (R. J. S.). — Potassium and neuromuscular transmission. *J. Physiol. (London)* : 1950, **111**, 382-387. (109).
142. HALEY (T. J.). — A comparison of the acute toxicity of two forms of thiamine.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. : 1948, **68**, 153-157. (244).
143. HALL (G. E.) et LUCAS (C. C.). — Cholinesterase activity of normal and pathological human sera. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1937, **59**, 34-42. (95).
144. HARVEY (A. M.). — Actions of procaine on neuromuscular transmission. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* : 1939, **65**, 223-238. (35).
145. HAZARD (R.), CHEYMOL (J.), CHABRIER (P.), CORTEGGIANI (E.), MULLER (P.) et BOURILLET (F.). — Activité curarimimétique de quelques sels d'ammoniums quaternaires dérivés du diœstrol. *Arch. internation. Pharmacodyn.* : 1954, **93**, 462-477. (45).
146. HAZARD (R.), CHEYMOL (J.), CHABRIER (P.), CORTEGGIANI (E.), MULLER (P.) et GAY (Y.). — Activité curarimimétique de quelques sels d'ammoniums quaternaires de bis-(di-alcyle amino éthoxy) éthylène. *Arch. internation. Pharmacodyn.* : 1953, **94**, 1-22. (15).
147. HAZARD (R.), CHEYMOL (J.), CHABRIER (P.), CORTEGGIANI (E.) et NICOLAS (F.). — Activité curarisante d'ammoniums quaternaires dérivés de nouvelles tétramines. *Arch. internation. Pharmacodyn.* : 1950, **84**, 237-256, (11, 45).
148. HAZARD (R.), CHEYMOL (J.), CHABRIER (P.), et SMARZEWSKA (K.). — Structure chimique et activité physiologique. I. Anticnulsivants (1^{re}, 2^e, 3^e partie). *Thérapie* : 1948, **3**, 223-235; 1949, **4**, 276-296; 1951, **6**, 129-136. (160).
149. HAZARD (R.), CHEYMOL (J.) et QUINQUAUD (A.). — Perte par sulfonation du pouvoir hyperthermisant du dinitro- α -naphtol (Jaune de Martius). *C. R. Soc. Biol.* : 1940, **133**, 661-663 (208).
150. HAZARD (R.), CHEYMOL (J.) et QUINQUAUD (A.). — Empêchement, par le dinitro- α -naphtol hyperthermisant, des apnées par yohimbine et adrénaline; leur persistance après dinitro- α -naphtol sulfoné, inactif sur la température. *C. R. Soc. Biol.* : 1940, **133**, 664-666 (208).
151. HAZARD (R.) et HAZARD (J.). — Etude physiologique et pharmacodynamique du potassium. *III^e Congrès International de Thérapeutique Madrid* : 1952, 15-46. (110, 111).
152. HAZARD (R.) et PIGNARD (P.). — Sur les sulfamides inhibiteurs des fonctions tubulaires, inhibiteurs de l'anhydrase carbonique, et hypoglycémisants. *Actuaités pharmacologiques*, 10^e série, 175-237, Masson édit. Paris : 1957. (140, 151).
153. HAZARD (R.) et WURMSER (L.). — Action curarisante vraie des sels de magnésium. *C. R. Soc. Biol.* : 1931, **107**, 453-455, (111).
154. HENRY (T. A.). — The plants alkaloids: *London, Churchill Edt.* : 1939, 690 p. (30).

155. VON HOF (C.) et SCHNEIDER (H. H.). — Über die Wirkungsweise von Magnesium im Gegensatz zu Curarin und Nicotin. *Arch. exper. Pathol. Pharmacol.* : 1952, **214**, 176-184. (112).
156. HUGGETT (A.) et ROWE (F. M.). — The relationship of azo dyes to the coagulation of blood. *J. Physiol.* (London) : 1933, **80**, 82-95. (236).
157. HUNT (C. C.) et KUFFLER (S. W.). — The pharmacology of neuromuscular junction. *Pharmacol. Rev.* : 1950, **2**, 96-120, (26, 52, 106, 110).
158. HUNT (R.). — Cyanwasserstoff, Nitril-glukoside, Nitrile, Rhodanwasserstoff, Isoncyanide, in HEFFTER (A.) : *Handbuch der experimentellen Pharmacologie*. Julius Springer édit. Berlin : 1923, **1**, 702-832. (114).
159. HUNT (R.) et RENSHAW (R. R.). — Ethers and thio-ethers of triethylammonium compounds. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1933, **48**, 105-125, (42).
160. HUSTON (M. J.), MARTIN (A. W.) et DILLE (J. M.). — Some effects of sodium pentobarbital (nembutal) and allyl, methyl butyl barbituric acid (seconal) at the somatic neuromyal junction and on skeletal muscle. *Arch. internation. Pharmacodyn.* : 1947, **74**, 56-62. (169).
161. HUXLEY (H. E.). — La contraction musculaire. *Endeavour* : 1956, **15**, 177-188. (26, 32).
162. JEWELL (P. A.) et ZAIMIS (E.). — A differentiation between red and white muscle in the cat based on responses to neuromuscular blocking agents. *J. Physiol.* : 1953, **120**, 47P-48P.; 1954, **124**, 417-428. (51, 51).
163. JOLYET (F.) et CAHOURS. — Sur l'action physiologique des sulfates de potasse, de soude et de magnésie en injection dans le sang. *Arch. Physiol. norm. et pathol.* : 1869, **2**, 113-120. (111).
164. JOSEPH (R.) et MELTZER (S. J.). — The comparative toxicity of the chlorides of magnésium, calcium, potassium and sodium. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1909, **1**, 1-26. (111).
165. JOSEPH (R.) et MELTZER (S. J.). — The life-saving action of physostigmin in poisoning by magnesium salts. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1909, **1**, 369-387. (111).
166. JULLIEN (A.). — Travaux pratiques de physiologie et principes d'expérimentation. Librairie J. B. Baillière et Fils, Paris, 1935, 500 p. (68).
167. KADNER (C. G.), DEAN (W. I.), CHAMBERS (D. F.) et POLIQUIN (R. G.). — The curare-like effect of thiamin hydrochloride solution on vagal inhibition of the frog heart. — *Science* : 1950, **112**, 84. (264).
168. KAISER (P.). — Über die Wirkung von Vitamine B₁ aus das isolierte Froschherz. *Arch. ges. Physiol.* : 1939, **242**, 504. (264).
169. KALOW (W.). — Urinary excretion of d-tubocurarine in men. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1953, **109**, 74-82. (60).
170. KARASSIK (V. M.), PETRUNKINA (A.) et PETRUNKIN (M.). — Über die Verbindung von Curare mit einigen Eiweiszstoffen und Farbstoffen und die Abhängigkeit dieses Prozesses vom pH. *Biochem. Z.* : 1929, **219**, 70-75. (154).
171. KATZ (B.). — Electric excitation of nerve. Oxford University Press-London, Humphrey Milford : 1939, 151 p. (66, 68).

172. KENSLE (C.J.). — The antagonism of curare by Congo red and related compounds. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1949, **95**, 28-44. (142, 206, 215, 236, 240).
173. KERN (E.). — Le curare en anesthésie. *Masson édit. Paris* : 1950, 124 p. (82).
174. KING (H.). — Derivatives of sulfur in commercial Salvarsan. *J. chem. Soc.* : 1921, **119**, 1107-1120. (183).
175. KING (H.). — Derivatives of sulfur in commercial Salvarsan. *J. chem. Soc.* : 1921, **119**, 1415-1420. (183).
176. KING (H.). — Curare alkaloids : I. tubocurarine. *J. chem. Soc.* : 1935, **138**, 1381-1389. (40).
177. KING (H.). — Botanical origin of tube-curare. *Nature (London)* : 1946, **158**, 515-516. (39).
178. KITANO (T.). — Vergleichende Untersuchungen über das pharmakologische Verhalten verschiedener Skelettmuskeln des Frosches. *Arch. exper. Pathol. Pharmacol.* : 1928, **129**, 271-284. (114).
179. KOELLE (G.B.). — The histochemical differentiation of types of cholinesterases and their localizations in tissues of the Cat. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1950, **100**, 158-179. (21).
180. KOELLE (G.B.). — The elimination of enzymatic diffusion artifacts in the histochemical localization of cholinesterases and a survey of their cellular distributions. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1951, **103**, 153-171. (21).
181. KOELLE (G.B.) et FRIEDENWALD (J.S.). — A histochemical method for localizing cholinesterase activity. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* : 1949, **70**, 617-622. (21).
182. KRAATZ (C.P.). et GLUCKMANN (M.I.). — The actions of barbiturates on the contractions of voluntary muscle. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1954, **111**, 120-129. (169, 171, 172).
183. KRAATZ (C.P.), GLUCKMANN (M.I.) et SHIELDS (H.L.). — The effects of thio-pental and pentobarbital on voluntary muscle. *J. Pharmacol. exper. Therap.*, 1953, **107**, 437-458. (84, 172, 173).
184. KUFFLER (S.W.). — Electric potential changes at an isolated nerve-muscle junction. *J. Neurophysiol.* : 1942, **5**, 18-26. (29).
185. KUFFLER (S.W.). — Responses during refractory period at myoneural junction in isolated nerve-muscle fibre preparation. *J. Neurophysiol.* : 1942, **5**, 199-209 (29).
186. KUFFLER (S.W.). — Further study on transmission in an isolated nerve muscle fibre preparation. *J. Neurophysiol.* : 1942, **5**, 309-322. (29).
187. KUFFLER (S.W.). — Specific excitability of the end-plate region in normal and denervated muscle. *J. Neurophysiol.* : 1943, **6**, 99-110. (29).
188. KUFFLER (S.W.). — The effects of calcium in the neuromuscular junction. *J. Neurophysiol.* : 1944, **4**, 17-26. (107).
189. KUFFLER (S.W.). — Excitability changes at the neuromuscular junction during tetany. *J. Physiol., (London)* : 1945, **103**, 403-411. (110).
190. KUFFLER (S.W.). — Electric excitability of nerve-muscle fibre preparations. *J. Neurophysiol.* : 1945, **8**, 77-88. (107).

191. KUFFLER (S.W.). — The relation of electric potential changes to contracture in skeletal muscle. *J. Neurophysiol.* : 1946, **9**, 367-377. (106).
192. KUFFLER (S.W.). — A second motor nerve system to frog skeletal muscle. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* : 1946, **63**, 21-23. (20).
193. KUFFLER (S.W.). — Physiology of neuromuscular junction - Electrical Aspects. *Feder. Proc.* : 1948, **7**, 437-446. (26).
194. KUFFLER (S.W.). — Transmitter mechanism at the nerve-muscle junction. *Arch. Sci. physiol.* 1949, **3**, 585-601. (26).
195. KUFFLER (S.W.). — Le système moteur à fibres nerveuses de petit diamètre. *Arch. Sci. physiol.* : 1949, **3**, 613-630. (20).
196. KUFFLER (S.W.). et VAUGHAN WILLIAMS (E.M.). — The distribution of small motor nerves to frog skeletal muscle and the membrane characteristics of the fibres they innervate. *J. Physiol. (London)* : 1953, **121**, 289-317. (20).
197. KUHN (R.), WIELAND (J.) et HUEBSCHMANN (H.). — Zur frage der chemischen Vermittler im Nerven. Acetyl-aneurin. *Z. f. physiol. Chem.* : 1939, **259**, 48, (231).
198. LANDS (Dr.). — Intervention lors de la présentation de l'article de HOPPE J.O. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* : 1951, **54**, 405-406. (41).
199. LANGLEY (J.N.). — On the reactions of cells and of nerve-endings to certain poisons, chiefly as regards the reaction of striated muscle to nicotine and to curare. *J. Physiol.* : 1905, **33**, 371-413. (28).
200. LAUNOY (L.). — Intervention lors de la séance du 22 Janvier 1921 à propos de la communication de Ch. FLANDIN et A. TZANCK. *C. R. Soc. Biol.* : 1921, **84**, 118-119. (186).
201. LEBEAU (P.) et JANOT (M.M.). — Traité de Pharmacie Chimique. Masson édit. Paris 1955-1956, (152).
202. LECOMTE (J.). — Action des sulfamides et des antibiotiques sur le muscle strié de la grenouille. *Arch. internation. Physiol.* : 1949, **56**, 311-326. (151, 153).
203. LI (T.H.), JACOBS (B.K.), AVIADO (D.M.) et SCHMIDT (C.F.). — Early respiratory depression by curare and curare-potassium antagonism. *J. Pharmacol. exper. Thérap.* : 1952, **104**, 149-161. (84, 172).
204. LIPMANN (F.) et KAPLAN (N.O.). — A common factor in the enzymatic acetylation of sulfanilamide and of choline. *J. biol. Chem.* : 1946, **162**, 743-744. (118, 130, 154).
205. LISSAK (K.), KOVACS (T.) et NAGY (E.K.). — Acetylcholine und Cholinesterasegehalt von Organen B₁-avitaminotischer und normaler Ratten. *Arch. ges. Physiol.* : 1943, **243**, 124-131. (257).
206. LOEWI (O.) et NAVRATIL (E.). — * Uber den Mechanismus der Vagus-wirkung von Physostigmin und Ergotamin. *Arch. ges. Physiol.* : 1926, **214**, 689-696. (53).
207. MAASKE (C.A.), BOYD (T.E.) et BROSNAN (J.J.). — Inhibition and impulse summation at the mammalian neuromuscular junction. *J. Neurophysiol.* : 1938, **4**, 332-341. (112).
208. MAHFOUZ (M.). — The fate of tubocurarine in the body. *Brit. J. Pharmacol.* : 1949, **4**, 295-303. (60).

209. MANGIERI (C. N.), ENGELBERG (R.) et RANDALL (L. O.). — The heparin-like activity of a new anticoagulant : Tréburon. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1951, **102**, 156-164. (195).
210. MASSARD (L.) et DUFAYT (R.). — Enzymic hydrolysis of acetylcholine. *Naturwissenschaften* : 1939, **33**, 567. *Chem. Abs.* : 1939, **33**, 93332. (257).
211. MASSART (L.) et DUFAYT (R.). — Activations et inhibitions de la cholinestérase. *Bull. Soc. Chim. biol.* : 1939, **21**, 1039. (106, 257).
212. MASSART (L.) et DUFAYT (R.). — Hydrolyse enzymatique et action pharmacologique de l'acétylcholine. *Enzymologia* : 1940, **8**, 392-395. (257).
213. MAZZELLA (H.) et FERRERO (N.). — Sobre la accion curarizante de la tiamina. *Arch. Soc. Biol. Montevideo* : 1949, **16**, 43-46. (244).
214. MINZ (B.). — La transmission chimique de l'influx nerveux. Flammarion édit. Paris : 1947, 318 p. (244, 262, 262, 264, 265).
215. MOGEY (G. A.) et YOUNG (P. A.). — The antagonism of curarizing activity by phenolic substances. *Brit. J. Pharmacol.* : 1949, **4**, 359-365. (57).
216. MONNIER (A. M.). — Le rôle du potassium dans l'excitabilité de la fibre nerveuse et musculaire. *Physiopathologie du Potassium : Colloque international du C.N.R.S.*, Paris : 1954 (106, 108).
217. MOURIQUAND (G.), EDEL (V.) et CHIGHIZOLA (R.). — Sur le choc vitaminique de l'acétylcholine. *C. R. Soc. Biol.* : 1951, **145**, 1192-1193. (244).
218. VON MURALT (A.). — Über den Nachweis von Aktionssubstanzen der Nervenerregung. *Arch. ges. Physiol.* : 1942, **245**, 604-632. (244).
219. VON MURALT (A.). — La conduction nerveuse. Aspects physico-chimiques. *Exp. Ann. Bioch. med.* : 1952, 14^e série, 232, Masson édit. Paris. (244).
220. NACHMANSOHN (D.). — Métabolisme et fonction de la cellule nerveuse. *Bull. Soc. Chim. biol.* : 1952, **24**, 447-465. (118).
221. NACHMANSOHN (D.) et JOHN (H. M.). — Studies on choline acetylase. I. — Effect of aminoacids on the dialyzed enzyme. Inhibition by α -ketoacids. *J. biol. Chem.* : 1945, **158**, 157-171. (130, 131).
222. NAESS (K.). — The effect of ether anesthesia on the function of the motor end-plate and the contractility of the muscle cell. *Acta physiol. scand.* : 1950, **19**, 350-369. (82, 170).
223. NAESS (K.). — A comparison of the effect of ether and curare on the nerve-muscle transmission investigated by means of prostigmin. *Acta physiol. scand.* : 1950, **20**, 117-124. (82).
224. NAESS (K.). — An investigation of the action potential of striated muscle under ether anesthesia. *Acta physiol. scand.* : 1950, **20**, 241-252. (82).
225. NAVIS (G. J.), TONER (J. J.) et COOK (L.). — Effect of β -diethylamino ethyl diphenylpropylacetate hydrochloride (SKF 525 A) on the activity of *d*-tubocurarine chloride. *Feder. Proc.* : 1953, **12**, 354. (60).
226. PACCA (M. L.) et VADILONGA (M.). — Modificazione dell'attività paralizzante della *d*-tubocurarina per somministrazione di caronamide. *Arch. Sci. biol. (Napoli)* : 1951, **35**, 280-285. (60, 151).
227. PAL (J.). — Physostigmin ein Gegengift des Curare. *Zentralbl. für Physiol.* : 1900, **14**, 255-258. (53).

228. PATON (W.D.). — The pharmacology of decamethonium. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* : 1951, **54**, 347-361. (49).
229. PATON (W.D.). — Fundamental concepts of the normal muscle function and the probable mode of action of blocking agents. *Proceedings of the conference on the myoneural junction*, 1955. *Papper et de Beer* édit. N. Y. : 1956, 1-42. (49).
230. PATON (W.D.). — Mode of action of neuromuscular blocking agents. *Brit. J. Anaesth.* : 1956, **28**, 470-480. (49, 51).
231. PATON (W.D.) et ZAIMIS (E.J.). — The pharmacological actions of polymethylene bis trimethylammonium salts. *Brit. J. Pharmacol.* : 1949, **4**, 381-400. (29, 82).
232. PATON (W.D.) et ZAIMIS (E.J.). — The methonium compounds. *Pharmacol. Rev.* : 1952, **4**, 219-247. (49, 171).
233. PAULSON (J.A.), LUNDY (J.S.) et ESSEX (H.E.). — Narcosis with pentothal sodium alone compared with narcosis with pentothal sodium combined with (1) curare or (2) myanesin. *Anesthesiology* : 1949, **10**, 387-400.
234. PETROFF (J.R.). — Über den Einfluss einiger kolloidaler Farbstoffe auf die kurare Vergiftung. *Arch. exper. Pathol. Pharmacol.* : 1924, **103**, 196-208. (190, 206, 215, 229).
235. PETROFF (J.R.). — Weitere Untersuchungen über die Schutzwirkung einiger Kolloid-substanzen bei kurare Vergiftung. *Arch. exper. Pathol. Pharmacol.* : 1925, **106**, 214-222. (190, 206, 215, 229).
236. PETROV (I.P.). — The detoxification of certain poisons by Congo red. *Arch. Sci. biol. (URSS)* : 1931, **31**, 59-66; *Chem. Abst.* : 1932, **26**, 3579. (206).
237. PICK (E.P.) et HOLLAND (H.L.). — Protection against skeletal muscle poisons by glutathione and thiamine. *Arch. internation. Pharmacodyn.* : 1951, **87**, 377-392. (184).
238. PICK (E.P.) et RICHARDS (G.V.). — The synergism of anesthetics and hypnotics with curare and curare-like alkaloids. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1947, **90**, 1-13. (84, 171).
239. PICK (E.P.) et UNNA (K.). — Effect of curare and curarelike substances on the central nervous system. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1945, **83**, 59-70. (244).
240. PRESTON (J.B.) et VAN MAANEN (E.F.). — Effects of frequency of stimulation on the paralyzing dose of neuromuscular blocking-agents. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1953, **107**, 165-171. (71).
241. PROTIVA (M.), PLIML (J.) et FINGLOVA (P.). — Synthetic analogs of the curare alkaloids. I. Bis (tertiary sulfonium salts) and sulfur analogs of succinylcholine. *Chem. Listy* : 1953, **47**, 1197-1203. *Chem. Abst.* : 1955, **49**, 1033 i. (42, 42).
242. QUILLIAM (J.P.) et TAYLOR (D.B.). — Antagonism between curare and the potassium ion. *Nature* : 1947, **160**, 603. (111).
243. RABUTEAU (M.). — Des effets toxiques des iodures de tétraméthylammonium et de tétramylammonium. *C. R. Acad. Sci.* : 1873, **76**, 887-890. (40).
244. RANDALL (L.O.). — Anticurare action of phenolic quaternary ammonium salts. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1950, **100**, 83-93. (55).
245. RANDALL (L.O.). — Synthetic curare-like agents and their antagonists. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* : 1951, **54**, 460-479. (52, 55, 55, 64).

246. RASKOVA (H.) et VOTAVA (Z.). — A comparison of some pharmacological properties of methylisothiourée and benzylisothiourée. *Arch. internat. Pharmacodyn.* : 1950, **82**, 35-47. (123, 132).
247. RASKOVA (H.), VOTAVA (Z.) et ZELENKOVA (B.). — L'activité anticurarisante de la méthylisothio-urée. *C. R. Soc. Biol.* : 1949, **143**, 1354-1355. (122, 123, 132, 133).
248. REISS (P.). — Action de quelques sels d'ammonium sur l'excitabilité du nerf et du muscle de grenouille. *C. R. Soc. Biol.* : 1930, **103**, 985-987. (112).
249. REITZEL (N.L.) et LONG (J.P.). — The neuromuscular blocking properties of α α' dimethyl ethanolamino-4-4 bi-acetophenone (Hemicholinium). *Arch. internat. Pharmacodyn.* : 1959, **119**, 20-30. (35).
250. RICKETTS (C.R.). — Dextran sulphate, a synthetic analogue of heparin. *Biochem. J.* : 1952, **51**, 129-133. (194).
251. RIESSER (O.). — Vergleichende Muskelphysiologie. *Ergebn. Physiol.* : 1936, **38**, 133-250. (114).
252. ROBERTSON (J.D.). — The ultrastructure of a reptilian myoneural junction. *J. biophys. biochem. Cytol.* : 1956, **2**, 381-394. (21).
253. ROBERTSON (T.B.). — On the nature of the superficial layer in cells and its relation to their permeability and to the staining of tissues by dyes. *J. biol. Chem.* : 1908, **4**, 1-34. (236).
254. ROSENBLUETH (A.) et MORISON (R.S.). — Curarization fatigue and Wedensky inhibition. *Amer. J. Physiol.* : 1937, **119**, 236-256. (111).
255. ROSSIGNOL (P.). — De l'emploi de la stimulation électrique en pharmacodynamie. *Prod. Pharm.* : 1959, **14**, 115-125 et 177-182. (66).
256. ROTHBERGER (J.). — Über die gegenseitigen Beziehungen zwischen Curare und Physostigmin. *Arch. ges. Physiol.* : 1901, **87**, 117-169. (53).
257. ROUS (P.), GILDING (H.P.) et SMITH (F.). — The gradient of vascular permeability. *J. exper. Med.* : 1930, **51**, 807-827. (236).
258. SALLE (J.). — Etude pharmacologique sur de nouveaux uréthanes dérivés des benzyl-, xylyl-, phényl-diméthylamine. *Thérapie* : 1953, **8**, 714-719. (54).
259. SCHALLEK (W.). — Effects of ether and curare on neuromuscular transmission. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* : 1946, **63**, 79-81. (82).
260. SECHER (O.). — The peripheral action of ether estimated on isolated nerve-muscle preparation I : Direct and indirect stimulation. *Acta pharmacol. toxicol.* : 1950, **6**, 371-385. (82).
261. SECHER (O.). — The peripheral action of ether estimated on isolated nerve-muscular preparation II : Synergism of ether and curarising substances. *Acta pharmacol. toxicol.* : 1951, **7**, 83-93. (82).
262. SECHER (O.). — The peripheral action of ether estimated on isolated nerve-muscle preparation. III : Antagonistic and synergistic actions of ether and neostigmine. *Acta pharmacol. toxicol.* : 1951, **7**, 103-118. (82).
263. SECHER (O.). — The peripheral action of ether estimated on isolated nerve-muscle preparation. IV : Measurements of action potentials in nerve. *Acta pharmacol. toxicol.* : 1951, **7**, 119-131. (82).
264. SECHER (O.). — Pilot investigation into the peripheral action of anesthetics. *Acta pharmacol. toxicol.* : 1951, **7**, 231-242. (169).

265. SHERRINGTON (C. S.). — A mammalian spinal preparation. *J. Physiol.* : 1909, **38**, 375-383. (85).
266. SIMONART (A.) et SIMONART (E. F.). — L'acétylcholine et le muscle strié normal de mammifère. *Arch. internation. Pharmacodyn.* : 1934, **49**, 302-338. (82, 170).
267. SIRNES (T. B.). — Some effects of barbituric acid derivatives on the function of the mammalian skeletal muscle. *Acta pharmacol. toxicol.* : 1954, **10**, suppl. I, 1-170 (170, 171, 173).
268. SMITH (J. A.), FOA (P. P.) et WEINSTEIN (H. R.). — Curare-like action of aneurin. *Science* : 1948, **108**, 412. (244).
269. SOMERS (G. F.) et WHITTET (T. D.). — Sterilization, stability and toxicity of Congo red injections. *J. Pharm. Pharmacol.* : 1956, **8**, 1019-1026. (216).
270. STEDMAN (E.). — Studies on the relationship between chemical constitution and physiological action. I : Positive isomerism in relation to the mitotic activity of some synthetic urethans. *Biochem. J.* : 1926, **20**, 719-734. (53).
271. SÜLLMANN (W.) et BIRKHÄUSER (H.). — Versuche über die enzymatische Spaltbarkeit von O-Acetylaneurin und über den Einfluss von Aneurin auf die Cholinesterase. *Schweitz Med. Wochensch.* : 1938, **69**, 648-650. (257).
272. TAUBMANN (G.) et WINKLER (G.). — Über eine hochwirksame antithrombotische Substanz von Heparin-charakter. *Klin. Wochensch.* : 1951, **29**, 296-297. (195).
273. THESLEFF (S.). — The mode of neuromuscular block caused by acetylcholine, nicotine, decamethonium and succinylcholine. *Acta physiol. scand.* : 1955, **34**, 218. (51).
274. THIENES (C. H.). — Antagonism of certain neuromuscular poisons by Congo red. *Arch. internation. Pharmacodyn.* : 1940, **39**, 314-324. (206, 215, 235).
275. TORDA (C.) et WOLFF (H. G.). — Effects of thiamine compounds in the striated muscle. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* : 1944, **56**, 89-91. (244, 248).
276. TORDA (C.) et WOLFF (H. G.). — Effect of amino-acids on acetylcholine synthesis. *Proc. Soc. exper. Biol. Med.* : 1945, **59**, 181-183. (131).
277. TORDA (C.) et WOLFF (H. G.). — Effect of some isocyclic, aromatic, and heterocyclic compounds on muscle sensitivity to acetylcholine and potassium. *Amer. J. Physiol.* : 1946, **145**, 608-614. (151).
278. TORDA (C.) et WOLFF (H. G.). — Effect of penicillin and sulfonamides on acetylcholine synthesis and on the response of muscle to acetylcholine and potassium. *J. Lab. clin. Med.* : 1946, **31**, 650-653. (151, 154).
279. TORDA (C.) et WOLFF (H. G.). — Effect of convulsant and anticonvulsant agents on acetylcholine metabolism (activity of choline-acetylase-cholinesterase) and on sensitivity to acetylcholine of effector organs. *Amer. J. Physiol.* : 1947, **151**, 345-354. (171, 171).
280. TORDA (C.) et WOLFF (H. G.). — Effect of amino-acids on neuromuscular function. *J. Lab. clin. Med.* : 1950, **36**, 866-871. (131).
281. TZANCK (A.). — Incoagulabilité sanguine in vitro par les arsénobenzènes. *C. R. Soc. Biol.* : 1921, **84**, 117. (186).
282. VANECEK (M.), VOTAVA (Z.), SRAMKOVA (J.) et STRAJEROVA (H.). — Pharmacological properties of new synthetic, curare-like substances. Sulfonium analogs of methonium salts derivatives of pyridine carboxylic and piperidinecarboxylic acids. *Physiolog. Bohemosloven.* : 1955, **4**, 220-228. *Chem. Abst.* : 1957, **51**, 7582 g. (42).

283. VAN MAANEN (E.F.). — Anticurare effect of 3-hydroxyphenyldimethylethylammonium bromide (Ro 2-3198) in the rat. *Feder. Proc.* : 1951, **10**, 342. (55).
284. VANREMOORTERE (E.). — L'atropinisation ou la curarisation du muscle strié de Grenouille n'abolit pas l'hypersensibilité aux ions déterminée par la vératrine. *C. R. Soc. Biol.* : 1946, **140**, 1175-1176. (263).
285. VANREMOORTERE (E.) et LECOMTE (J.). — Modifications pharmacodynamiques des actions musculaires du potassium. *Colloque international du C.N.R.S. Physiopathologie du potassium*. Paris : 1954. (106, 112, 113, 114, 115, 263).
286. VARNEY (R.F.), LINEGAR (C.R.) et HOLADAY (M.A.). — The assay of curare by the rabbit « head-drop » method. *J. Pharmacol. exper. Therap.* : 1949, **97**, 72-83. (93).
287. VELDSTRA (H.). — Synergism and potentiation with special reference to the combination of structural analogues. *Pharmacol. Rev.* : 1956, **8**, 339-387. (237).
288. VINCENT (D.) et BRYGOO (P.). — Etude de l'action de quelques médicaments arsénicaux anti-syphilitiques sur la cholinestérase du sérum. *Bull. Soc. Chim. biol.* : 1946, **28**, 174-178. (186).
289. WALKER (J.). — Some new curarizing agents. *J. chem. Soc.* : 1950, 193-197. (42).
290. WALKER (S.M.) et LAPORTE (Y.). — Effects of potassium on the end-plate potential and neuromuscular transmission in the curarized semitendinosus of the frog. *J. Neurophysiol.* : 1947, **10**, 79-85. (110, 110).
291. VAN DE WALLE (J.). — Les curares naturels. *Anesth. Analg.* : 1951, **8**, 240-277. (26, 106, 109).
292. WASER (P.G.). — Curare and cholinergic receptors in the motor end-plate. *Symposium international de Rio de Janeiro. Elsevier édité. « Curare and Curare-like agents »* : 1959, 219-229. (29, 41).
293. WESCOE (W.C.) et RICKER (W.F.). — The pharmacology of anti-curare agents. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* : 1951, **54**, 438-459 (52, 54).
294. WILLSTÄTTER (R.) et HEUBNER (W.). — Über eine neue Solanaceenbase. *Ber. deutsch. chem. Ges.* : 1907, **40**, 3869-3875. (40).
295. WILSON (A.T.) et WRIGHT (S.). — Anticurare action of potassium and other substances. *Quat. J. exper. Physiol.* : 1936, **26**, 127-139. (111).
296. WINTERSTEIN (A.). — Héparines et héparinoïdes. *Symposium sur les macromolécules. (Centenaire de l'Institut National Genevois)* : 1954, vol. hors série, 93-109. (191, 191).
297. ZAIMIS (E.). — Motor end-plates differences as a determining factor in the mode of action of neuromuscular blocking substances. *Nature (London)* : 1952, **170**, 617. (65).
298. ZAIMIS (E.). — Motor end-plate differences as a determining factor in the mode of action of neuromuscular blocking substances. *J. Physiol.* : 1953, **122**, 238-251. (47, 65).
299. ZAIMIS (E.). — The interruption of neuromuscular transmission and some of its problems. *Pharmacol. Rev.* : 1954, **6**, 53-72. (42, 51).
300. ZELLER (E.A.). — Über die Hemmung der Cholinesterase durch p. Aminobenzolsulfonsäure-amide und Diamine. *Helv. chim. Acta* : 1942, **25**, 216-229. (153).

TABLE DES COMPOSÉS ÉTUDIÉS

	Pages
Acétarsol	182
Acétazolamide	146
Acéthylméthionine	123
Acétylthiamine (Chte)	251
Acide sulfanilique	142
Acide 2-thénoïque	125
Afridol violet	218
Amaranthe A.S.	212
Amino-éthylisothio-urée	122
Amino-2 thiazole	126
Arsphénamine	178
Aurothiopropanolsulfonate de sodium	124
(Benzylisothio-urée)	133
Bleu brillant F.C.F.	227
Bleu de bromophénol	226
Bleu Evans	217
Bleu trypan	217
Chlorothiazide	147
Cocarboxylase	250
Cyclohexyldithiohydantoïne	163
Cystéamine	121
Cystéine	121
Dextrarine	194
Diéthylldithiohydantoïne	163
Dimercaprol	124
Diméthylldithiohydantoïne	162
Diméthylhydantoïne	163
Diméthylthio-2 hydantoïne	163
Diméthylthio-4 hydantoïne	163
Diméthylthio-urée	123
Diphényldithiohydantoïne	163
Diphénylhydantoïne	163

	Page
Diphénylthio-2 hydantoïne	163
Dithiocholine (Bre)	124
Ecarlate G.N.	211
Est. 1 ou 98 E.	214
Est. 2	211
Est. 3	213
Est. 4	213
Glucoside de la naphthionine	209
Glybutiazol	148
Groupement pyrimidique de la thiamine	253
Groupement thiazolique tertiaire de la thiamine ..	253
Groupement thiazolique quaternaire de la thiamine	253
Groupement thiazolique quaternaire de la thiamine (ester chlorhydrique)	254
Hectine	179
Héparine	191
Homocystéine	123
Hydantoïne de la méthionine	123
Hyposulfite d'ammonium	103
Hyposulfite de calcium	102
Hyposulfite de magnésium	102
Hyposulfite de potassium	102
Hyposulfite de sodium	100
Isobutyryl thio-urée	163
Jaune de Martius S	207
Liquoïde	196
Mebubarbital	165
Mercaptothiazoline	125
Méthionine	123
Méthyléthylthiohydantoïne	162
(Méthylisothio-urée)	132
Naphtazosulfainide	143
Naphthionine	208
Naphtylaminodisulfonate de sodium	209
Négatol	197
Néo-arsphénamine	177
Noir brillant B.N.	215

	Page
Noir 5410	219
Noprylsulfamide	145
Penthiobarbital	165
Phénarsonsone sulfoxylate	180
Phénolphtaléine	219
Phénoltétrachlorophthaléine	222
Phénopryldiasulf. ne sodique	145
Ponceau 4 R	214
Ponceau S.X.	211
Probenecid	148
Propylthio-uracyle	126
Pyramine	255
Rouge Congo	215
Rouge de bromophénol	225
Rouge de phénol (P.S.P.)	222
Rouge solide E	212
Rouge trypan	216
Saccharine	149
Somnifène	166
Sulfanilamide	143
Sulfathio-urée soluble	145
Sulfocyanure de sodium	104
Suramine sodique	218
Taurine	123
Tétra-iode	221
Tétraméthylthio-urée	123
Tétrathionate de diéthylamine	104
Tétrathionate de sodium	104
Thiamine (Chte)	246
Thio-arsphénamine	176
Thiochrome	251
S-thiopropylthiamine	255
Thio-urée	123
Tréburon	195
Vert Guinée B	226
Vert Lumière	228
Violet acide 6 B	227

TABLE DES MATIÈRES

ABRÉVIATIONS	II
INTRODUCTION	13
I ^{re} Partie : GÉNÉRALITÉS	17
— Chapitre I : La transmission neuromusculaire	19
— Chapitre II : La curarisation. Antagonisme et Potentialisation	37
II ^e Partie : MÉTHODES EXPÉRIMENTALES	63
III ^e Partie : RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX — ESSAIS D'INTERPRÉTATION	97
— Chapitre I : Dérivés soufrés minéraux	99
— Chapitre II : Acides aminés soufrés et dérivés. Thio dérivés organiques de faible P M.	117
— Chapitre III : Sulfamides et composés voisins	139
— Chapitre IV : Thiohydantoïnes — Thiobarbituriques	159
— Chapitre V : Dérivés arsenicaux sulfonés	175
— Chapitre VI : Molécules polysulfonées	189
— Chapitre VII : Colorants	205
— Chapitre VIII : Thiamine et dérivés	243
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	267
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	277
TABLE DES COMPOSÉS ÉTUDIÉS	295

Mise en évidence, par spectrophotométrie
d'une interaction à pH 7,4
entre le chlorure de *d*-tubocurarine
et quelques colorants

2^e THÈSE

pour l'obtention du diplôme de

Doctorat d'Etat en Pharmacie

Présentée et soutenue le 21 Décembre 1959

PAR

François BOURILLET

Pharmacien

Licencié ès-Sciences

Diplômé de l'Institut de Pharmacodynamie
et de Pharmacotechnie de la Faculté de Pharmacie de Paris

Assistant à la Faculté de Médecine de Paris

Ancien interne des Hôpitaux de Paris

Ancien Préparateur et ancien chargé de cours
à l'Ecole pratique des Hautes Etudes

JURY

MM. VALETTE, *Président*,
QUEVAUVILLER,
ROSSIGNOL,

